

PAULO CESAR KUSSEK

PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA UTILIZANDO SOLUÇÃO SALINA
HIPERTÔNICA A 4,5%

Dissertação apresentada ao PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO - MESTRADO
EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO
ADOLESCENTE da Universidade Federal
do Paraná, como parte dos requisitos para
obtenção do grau de MESTRE EM
PEDIATRIA.

Área de Concentração: Pediatria
Linha de Pesquisa: Imunopatologia

Orientador: Prof. Dr. Nelson Augusto
Rosário Filho

CURITIBA


2004

Parecer

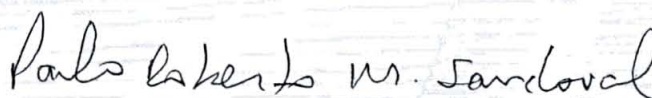
Parecer Conjunto dos Professores Dr. Nelson Augusto Rosário Filho, Dr. Paulo Augusto Moreira Camargos e o Dr. Paulo Roberto de Miranda Sandoval sobre a Dissertação de Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal do Paraná, elaborada por Paulo Cesar Kussek intitulada: "Provocação Brônquica Utilizando Solução Salina Hipertônica a 4,5%".

*A Banca Examinadora considerou que Paulo Cesar Kussek apresentou trabalho adequado para Dissertação de Mestrado e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, atribuindo-lhe: **Conceito "A"**, correspondente ao **Grau "100"**, sendo, pois unanimemente recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **"Mestre em Pediatria"** e a publicação da Dissertação em veículo de divulgação conveniente, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições.*

Curitiba, 13 de fevereiro de 2004.


Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho


Prof. Dr. Paulo Augusto Moreira Camargos


Prof. Dr. Paulo Roberto de Miranda Sandoval

AGRADECIMENTOS

A Deus
À Família
Ao Orientador
Aos Colegas da Pneumologia
Aos Funcionários do Curso de
Pós Graduação
Aos Funcionários do Hospital
de Clínicas
Ao Hospital Pequeno Príncipe
Aos Professores do Curso
Aos Colegas do Curso
Às Minhas Secretárias
A Farmácia
Ao Sr. João C. Seratiuk pelo grande apoio no preparo da solução salina
hipertônica a 4,5%

E também aos professores Dr. Luiz Gonzaga Calleffe e Dra. Mônica Lima
Cat pelo grande auxílio na análise estatística do estudo.

E ESPECIALMENTE:

Ao Professor Dr. Nelson Augusto Rosário Filho, extremamente competente,
versátil e incansável pesquisador. Não poupou esforços e estímulos para que o estudo
fosse concluído com qualidade e excelência. Minha admiração e gratidão.

A minha esposa Simone que esteve ao meu lado em todos os momentos
na realização deste estudo. Momentos difíceis, mas que fortaleceram a aliança, o
carinho e o amor que existe entre nós. Muito obrigado pela sua paciência.

Aos meus filhos, João Vitor e Marco Antônio que tiveram a tolerância aos
meus de momentos de stress e obediência aos meus pedidos de silêncio.

NOTA EXPLICATIVA

Por sugestão do colegiado do curso de Pós-Graduação, esta dissertação não segue as normas para edição de teses da UFPR, para facilitar sua publicação.

Este trabalho será apresentado em duas partes:

- A primeira é uma revisão sobre **HIPERRESPONSIVIDADE BRÔNQUICA**.
- A segunda é um artigo original, dentro das normas editoriais do Jornal de Pneumologia para ser submetido à publicação, intitulado **“AVALIAÇÃO DA HIPERRESPONSIVIDADE BRÔNQUICA À SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES”**

1ª parte

Versão preliminar do artigo de revisão

HIPERRESPONSIVIDADE BRÔNQUICA

SUMÁRIO I

Listas de Figuras	6
Lista de Abreviaturas	7
1 INTRODUÇÃO	8
2 FISIOPATOLOGIA	10
3 PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA	15
3.1 Modelos de resposta	16
3.2 Interferência por medicamentos	16
3.3 Classificação dos estímulos provocadores	17
3.4 Métodos de avaliação da hiperresponsividade	18
3.5 Análise e interpretação.....	19
3.6 Indicações clínicas	21
4 PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA OSMÓTICA OU NÃO-ISOTÔNICA OU HIPERTÔNICA.....	23
4.1 Os mecanismos pelos quais aerossóis não-isotônicos causam estreitamento da via aérea	23
4.2 Fatores que interferem na resposta a provocação brônquica	24
4.3 Classificação da hiperresponsividade	26
5 REFERÊNCIAS	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Probabilidade de sintomas clínicos e diagnóstico conclusivo de alergia para os níveis séricos de IgE específica.....	14
Figura 2 - Declínio do VEF ₁ e volume acumulado de SH em cada tempo de inalação, em asmático com provocação positiva aos 4 minutos (PD 15).....	20

LISTA DE ABREVIATURAS

UFPR =	Universidade Federal do Paraná
SH=	Solução salina hipertônica a 4,5%.
HRB=	Hiperresponsividade brônquica
VEF ₁ =	Volume expiratório forçado no primeiro segundo (Litros)
PB =	Provocação brônquica
PD =	Dose Provocadora
PC =	Concentração Provocadora
Dp =	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
%=	Porcentagem
IgE=	Imunoglobulina E
mL =	Mililitros
B ₂ =	Broncodilatador
IR =	Índice de Responsividade
CI=	Corticóide Inalatório

1 INTRODUÇÃO

Todos os indivíduos apresentam variabilidade no diâmetro das vias aéreas, onde a maior variabilidade é indicativa de um aumento da responsividade, sendo este fenômeno, uma característica da asma. Asma é uma doença altamente prevalente e com expressivos índices de morbidade, contudo, quando diagnosticada e tratada adequadamente, permite uma vida normal ao paciente. Por sua definição,(1) asma é uma doença inflamatória crônica, caracterizada por hiperresponsividade de vias aéreas inferiores e por limitação variável ao fluxo aéreo, reversível espontaneamente ou sob tratamento, manifestando-se clinicamente por episódios recorrentes de sibilância, dispnéia, sensação de opressão torácica e tosse, particularmente á noite e pela manhã ao despertar. Resulta da interação entre o genótipo, exposição ambiental e outros fatores específicos que levam ao desenvolvimento e manutenção dos sintomas. (1)

Há evidências que a incidência da asma tem aumentado nas últimas décadas, (2) mas ainda permanece difícil diagnosticar asma na população infantil, principalmente em estudos epidemiológicos pela variedade de manifestações clínicas e falta de um método diagnóstico padrão ouro.(3) A história de sintomas respiratórios isolados é insatisfatória em muitos pacientes, pois há diferentes expressões individuais, interraciais e diferentes expressões nas diversas classes socioeconômicas. (3) Aliado a isto, está o fato de que os pais dos pacientes com sintomas de asma, não têm uma correta percepção dos sintomas, bem como não há um adequado acompanhamento médico, além do uso de diferentes termos médicos como, bronquite espástica, bronquite

asmática, bronquite alérgica para a mesma doença.(4) Assim a combinação de sintomas respiratórios com testes objetivos de função pulmonar e medida da hiperresponsividade brônquica, são recomendados para garantir resultados científicos confiáveis nos estudos.

Responsividade brônquica é definida como uma tendência normal à constrição, como resposta a estímulos ambientais e *hiperresponsividade brônquica* é relacionada a uma resposta exagerada, acima da normalidade, aos mesmos estímulos. O termo hiperresponsividade é recomendado como termo geral de descrição do fenômeno (5), não confundindo com os termos, *Reatividade* que refere-se a medida da quantidade de mudança do VEF₁ em resposta a um estímulo (5) e sensibilidade, a precocidade da resposta ao agente provocador. (5)

2 FISIOPATOLOGIA

A obstrução aguda de vias aéreas decorre da contração do músculo liso, com ou sem inflamação, pois o espasmo brônquico é um mecanismo fisiológico de proteção. A obstrução pode ser reproduzida em laboratório com testes de provocação, onde utilizam-se estímulos que causam espasmo, medido pelas provas de função pulmonar. O conceito do uso da resposta fisiológica dos brônquios (espasmo) como método diagnóstico para asma, teve seu início na década de 1940 na França, com aprimoramento em 1950 por *ROBERT TIFFENAU*. A resposta constritora dos brônquios varia de um estímulo para outro, por isto faz-se necessário especificar o agente provocador, abandonando-se o termo inespecífico.

A inflamação na asma não está confinada às grandes vias aéreas centrais, mas estendem-se também as pequenas vias aéreas.(6) A resposta inflamatória tem características especiais que incluem, infiltração eosinofílica, degranulação de mastócitos, lesão intersticial das paredes das vias aéreas e ativação de linfócitos Th2 que produzem citocinas, como as interleucinas (IL-4, IL-5, IL-13, entre outras), responsáveis pelo início e manutenção do processo inflamatório. Vários mediadores inflamatórios são liberados pelos mastócitos brônquicos (histamina, leucotrienos, triptase e prostaglandinas), pelos macrófagos (fator de necrose tumoral, TNF alfa, IL-6, óxido nítrico), pelos linfócitos T (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, fator alfa de crescimento de colônia de granulócitos(GM-CSF), pelos eosinófilos, (proteína básica maior, proteína catiônica eosinofílica, peroxidase eosinofílica, mediadores lipídicos e citocinas), pelos neutrófilos (elastase) e pelas células epiteliais (endotelina-1, mediadores lipídicos e óxido nítrico). Através de seus mediadores, as células causam lesões e alterações na integridade epitelial, anormalidades no controle neural autonômico (substância P, neurocinina A) e no tônus das vias aéreas, alterações na permeabilidade vascular, hipersecreção de muco, mudanças na função mucociliar e aumento da reatividade do músculo liso da via aérea.(5)

Os mastócitos produzem e secretam vários mediadores inflamatórios, sendo o mais conhecido, a histamina. A histamina foi o primeiro mediador envolvido na fisiopatologia da asma, mas não sabemos sua real influência, pois cromoglicato dissódico e β -adrenérgico de curta duração são excelentes estabilizadores da membrana do mastócito, mas no entanto, não controlam adequadamente a doença, mesmo utilizando-os a longo prazo, assim como, antihistamínicos H1 e H2 têm pouca ação nas vias aéreas. Mastócitos e eosinófilos também produzem leucotrienos (LTC₄, LTD₄ e LTE₄) (7) que são mediadores da responsividade das vias aéreas e causam broncoconstrição, hipersecreção e aumento da permeabilidade vascular, importantes na fisiopatologia da asma, mas ainda não sabemos exatamente, quais os fenótipos que irão responder a terapia com antileucotrienos.(8) O TGF- β , é um fator fibrogênico produzido por células inflamatórias tais como eosinófilos, mastócitos, células do músculo liso e células epiteliais, que facilita a deposição de colágenos na parede brônquica. (8)

A lesão epitelial resultante do processo inflamatório facilita o acesso de alérgenos e substâncias tóxicas às camadas mais profundas da mucosa, aumentando a resposta celular e perpetuando assim o processo. (8)

Todos os fatores citados são importantes para asma, mas até o momento não sabemos quais deles têm maior correlação com a gravidade da asma. Alguns estudos apontam o espessamento da camada epitelial, bem como espessamento da camada muscular, com a gravidade, determinando que este componente do remodelamento seria um importante fator (9). O remodelamento das pequenas vias aéreas poderia explicar a obstrução fixa e irreversível.(6).

Os conhecimentos da inflamação brônquica foram adquiridos através do estudo das grandes vias aéreas, da análise de biópsias endobrônquicas proximais e indução de escarro, mas atualmente com o surgimento da biópsia transbrônquica distal, também estudam-se as pequenas vias aéreas e inflamação alveolar.(10) Pequenas vias aéreas são definidas como a geração de brônquios a partir da 7^o e 8^o ramificações com lúmen menor de 2 mm. A inflamação alveolar é importante na fisiopatologia da asma, por isto os termos pequenas vias aéreas ou pulmão distal referem-se à somatória da inflamação alveolar com a inflamação de pequenas vias aéreas.(10) Os eosinófilos e seus marcadores foram os primeiros indicadores inflamatórios da asma, e estão presentes nas vias aéreas de todos os pacientes asmáticos.(8) A quantidade de eosinófilos parece estar correlacionada com a gravidade da asma, quanto maior a quantidade, maior a possibilidade de asma fatal.(8) Na asma grave córticorresistente, geralmente há grande quantidade de linfócitos CD 25 positivos nas vias aéreas, provavelmente pelo maior tempo de evolução da doença, diferente de outras asmas, onde há predominância de eosinófilos.(8) O linfócito T é importante na fisiopatogênese da asma, pois produz fator de necrose tumoral, interleucina 4, interleucina 5 e 13, que facilitam a migração dos eosinófilos para o tecido através do endotélio vascular.

Em pacientes que morreram de asma há maior infiltração de células nas grandes vias aéreas, ao contrário da asma não fatal onde a alteração predomina nas pequenas vias aéreas. (11)

EM 1996, *KRAFT* observou que em biópsia do tecido alveolar realizado às 4 da manhã e 4 horas da tarde em pacientes com asma noturna, havia um aumento significativo de eosinófilos por unidade de volume, principalmente no horário noturno (4 horas da manhã) quando comparados com pacientes com asma não noturna. (6)

A **inflamação brônquica** constitui o fator fisiopatogênico mais importante da asma.(1,12). Está presente em todos os pacientes com asma, mesmo aqueles de início recente com formas leves, e mesmo entre os assintomáticos com espirometria normal.

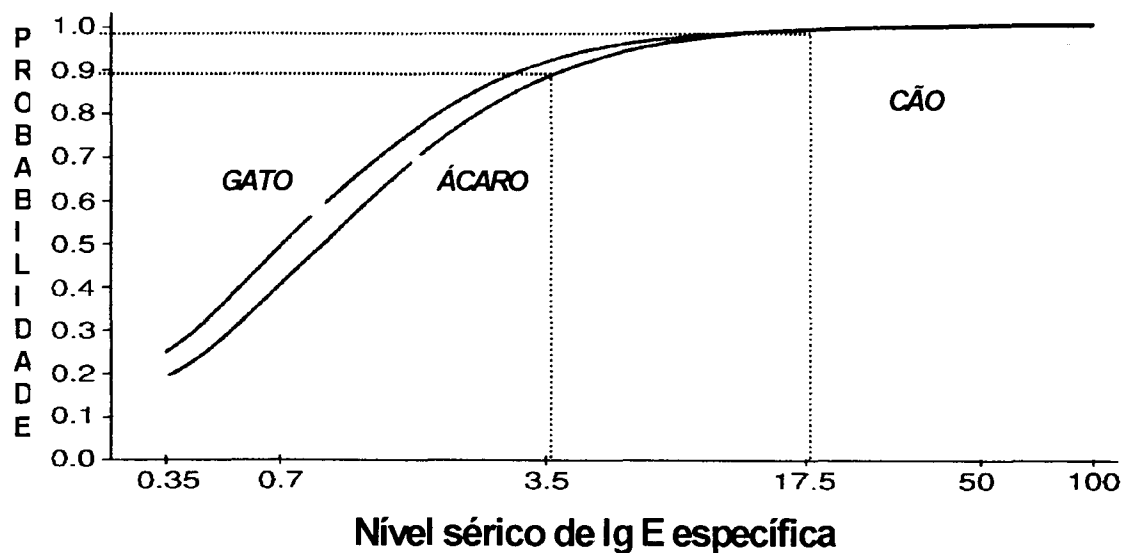
O uso de corticosteróides inalatórios ou até mesmo sistêmicos, controlam parcialmente a inflamação brônquica. Relatos de *WIGGS e cols* indicam o remodelamento de pequenas vias aéreas, mesmo em asmáticos que usavam continuamente corticosteróides inalatórios, evidenciando assim que a doença evolui mesmo com a terapêutica adequada. (6)

As consequências da inflamação brônquica podem ser estudadas também através da tomografia de alta resolução, pois analisa imagens das vias aéreas com diâmetro entre 1,5 a 2 mm, e espessamento brônquico tão pequeno quanto 0,25 mm. Também detecta retenção de ar, através da mudança de transparência do parênquima pulmonar, descrito num termo radiológico, “perfusão em mosaico” .(10) Em 1998, *GOLDIN* descreveu que a provocação brônquica causa constrição em mais de 95% das vias aéreas com calibre entre 1,6 e 2,5 mm, causando retenção de ar e conseqüentemente permitindo sua visualização por tomografia computadorizada de alta resolução. (10)

Atopia é definida como uma síndrome clínica onde a asma é um dos componentes, por isso há uma inevitável associação de asma com atopia. Na atopia há mudanças imunológicas associadas com este grupo de condições, incluindo resposta positiva ao alérgeno na pele e altas concentrações de IgE circulante. (13) O aumento de IgE sérica específico para ácaros (Dp), leva a um processo inflamatório alérgico nas vias aéreas, que manifesta-se por um aumento da responsividade aos agentes inaláveis.(13) A probabilidade de haver sintomas clínicos, aumenta de acordo com o nível sérico de anticorpo IgE específico, podendo chegar a 100% quando os níveis são iguais ou superiores a 17,5 kU/L. (figura 1) (14)

Vários estudos já foram realizados em atopia e HRB, e fica uma pergunta ainda a ser respondida: a atopia é um fator de risco, ou a causa para HRB ? (13)

Essa associação é falha em alguns indivíduos, onde estes fatores manifestam-se independentes, chamada por alguns autores de HRB inespecífica. (13)



Adaptado de Paganelli, Allergy 1998;53:763-8 por Ahlstedt S, Clin Exp Allergy.

Figura 1 - Probabilidade de sintomas clínicos e diagnóstico conclusivo de alergia para os níveis séricos de IgE específica.

3 PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA (PB)

A broncoprovocação pode ser definida como a administração de estímulos a indivíduos susceptíveis, seguida por medidas do broncoespasmo resultante.(15) Doenças como rinite alérgica, fibrose cística, infecção viral recente de vias aéreas, bronquite crônica, bronquiectasia, tuberculose, sarcoidose, história familiar de asma ou mesmo, exposição ocupacional ou sazonal a alérgenos aumentam a responsividade das vias aéreas.(5) Os indivíduos normais respondem diferentemente aos estímulos farmacológicos e ambientais (ar frio, exercícios), mas durante um quadro viral, os pacientes podem responder aos dois tipos de estímulos simultaneamente. (5)

Hiperresponsividade brônquica à histamina ou metacolina é identificada em quase todos os pacientes com sintomas de asma. Hiperresponsividade leve está presente em 10 a 15% dos pacientes com sintomas de rinite, sem doença respiratória, e em 5% de pacientes normais incluindo indivíduos alérgicos, ainda sem manifestação clínica e indivíduos realmente falso-positivos.(4) Nestes pacientes é necessário grande estímulo para ocorrer espasmo brônquico. Exemplo disto, ocorre em pacientes que tiveram contato com alérgenos, sensibilizantes ocupacionais ou mesmo após quadro viral, os quais apresentam hiperresponsividade brônquica elevada temporariamente. Pacientes asmáticos, fora do período sazonal, podem apresentar testes falso-negativos, pois a reatividade oscila conforme a época do teste.

Cada agente provocador da broncoconstrição tem seu local de ação: no **músculo liso** atuam a metacolina e a histamina, por **mecanismo neurogênico e celular** atuam aerossóis não isotônicos, exercícios físicos, inalação de ar frio e/ou ar seco. O tempo para atingir o pico, duração da ação e recuperação da função pulmonar (5) são importantes para cada agente, pois a metacolina apresenta um efeito mais duradouro que a histamina, causando ao paciente uma sintomatologia respiratória mais prolongada.

3.1 Modelos de Resposta

O paciente pode apresentar diferentes padrões de resposta aos estímulos provocadores, podendo ser isolada (imediate ou tardia) ou resposta dupla (imediate e tardia)(5).

3.2 Medicamentos Interferem na PB

Torna-se complicada a interpretação da significância da inflamação de vias aéreas, pois temos falhas na correlação entre índices patológicos e fisiológicos. Mesmo a relação entre inflamação de vias aéreas e hiperresponsividade, ainda não está bem clara. Os corticosteróides são considerados, o tratamento antiinflamatório mais efetivo da asma, mas seu mecanismo de ação ainda permanece pouco conhecido.(16) Através do exame imunohistológico, verificamos que o uso prolongado de corticosteróides, leva a uma nítida redução do número de mastócitos, bem como redução do número de eosinófilos e linfócitos T ativados. (16)

O uso de corticosteróide inalatório (CI) na dose diária de 400-2000 microgramas por 2 a 8 semanas, supostamente reduz o número de mastócitos e interfere com a resposta à inalação salina, bem como interfere com a resposta a metacolina e histamina. (17) Diante disto, a inalação de SH seria o teste padrão para verificar a eficácia do tratamento quando utilizamos CI. (17)

3.3 Classificação dos Estímulos Provocadores

Os estímulos provocadores são classificados em: (18)

Seletivos - são aqueles que causam constrição numa pequena parcela dos asmáticos. Por sua vez, os estímulos seletivos podem ser: sensibilizantes (alérgenos inalados ou ingeridos), não sensibilizantes (aditivos alimentares, ou medicamentos como ácido acetilsalicílico e antiinflamatórios não hormonais).

Não-seletivos - a maioria de asmáticos responde a inúmeros estímulos não-seletivos. Podem ser: *químicos* (histamina, agonistas colinérgicos como a metacolina, bloqueadores beta-adrenérgicos, agonistas alfa-adrenérgicos, prostaglandina ($F_{2\alpha}$), leucotrienos (C4, D4, E4), fator de ativação plaquetário, bradicininas, taquicininas, serotoninas, AMP, não mediadores (SO_2) e *físicos* (exercício físico, ar frio, hiperventilação, aerossol não-isotônico e poeira doméstica).

Os estímulos podem agir *diretamente* no receptor específico do músculo liso causando constrição, como exemplos, a histamina, análogos aos colinérgicos e metabólitos do ácido araquidônico, sendo estes de maior relevância clínica devido sua especificidade. E *indiretamente*, utilizando outras vias efetoras como a via neurológica ou humoral, a exemplo do AMP, bloqueadores β_2 -adrenérgicos e taquicininas.

Utilização de histamina e metacolina têm sido bem padronizadas e validadas, mas acredita-se que o uso de métodos físicos mimetiza melhor a condição a que as vias aéreas são submetidas no dia-a-dia. Contudo, apresentam maiores dificuldades do que as tradicionais, e até o momento, está longe sua padronização e validação. A histamina e metacolina são reconhecidas como seguras, ao contrário das substâncias sensibilizantes como alérgenos e sensibilizantes ocupacionais, pois podem causar obstrução tardia das vias aéreas.

Em qualquer método de provocação brônquica deve-se incluir algumas precauções: material laboratorial, pessoal treinado, protocolos escritos, disponibilidade de equipamento de ressuscitação, oxigênio, broncodilatadores, antihistamínicos, corticóides e adrenalina, tendo enfoque no tratamento de asma aguda grave.

3.4 Método de Avaliação da Hiperresponsividade Brônquica

O método mais sensível e adequado para medir a responsividade de vias aéreas, é a medida da resistência ou condutância de vias aéreas, mas é de difícil execução principalmente em crianças, por isto prefere-se utilizar os testes de função com medida do VEF₁, pela simplicidade e reprodutibilidade. Há basicamente duas maneiras de medir a função pulmonar em crianças:

1. Manobra com inspiração profunda até capacidade pulmonar total, com verificação de CVF, VEF₁, pico de fluxo, curva fluxo-volume.

2. Manobra sem inspiração profunda onde medimos a resistência ou condutância de vias aéreas(19). A curva fluxo-volume expiratória parcial é mais sensível para pequenas mudanças de diâmetro brônquico do que o VEF₁. Esta manobra é mais utilizada para pesquisa em pacientes saudáveis, em que a resposta broncoconstritora é limitada. Contudo a reprodutibilidade da responsividade de via aérea é menor do que VEF₁, assim não está recomendado para prática clínica e estudos epidemiológicos.

3.5 Análise e Interpretação

- Curva dose-resposta - Utilizada em experimentos onde utiliza-se drogas ou quando consegue-se determinar a dose que provocou a queda do VEF_1 . Os resultados devem ser preferencialmente analisados através de curva dose-resposta, ou PD (dose provocadora). Para isso é necessário um dosímetro, e dosar ou quantificar o remanescente do fármaco no nebulímetro. A análise permite o cálculo da sensibilidade para o estímulo (posição da curva) como também, mede a intensidade da resposta com aumento da dose. Utilizada também na provocação brônquica com SH quando utilizamos concentração constante. (figura 2)
- Curva concentração-resposta (PC) - é o período de tempo de volume-corrente inalado de um nebulizador com débito contínuo, expressa em PC, isto é a concentração que provoca queda do VEF_1 . Usada na provocação brônquica com solução salina hipertônica, quando utilizamos concentrações diferentes em cada nebulização.
- Índice de Responsividade (20)– índice que expressa melhor a resposta ao teste de provocação com SH. Esse índice correlaciona-se com a PD15, mas é superior pois considera a maior redução do VEF_1 em relação ao volume total inalado, ao final do teste. É mais prático, obtendo-se resultado direto, requerendo somente a divisão da porcentagem de queda máxima do VEF_1 pelo volume total inalado, enquanto na curva dose-resposta, o valor é procurado por interpolação em curva semilogaritmica.

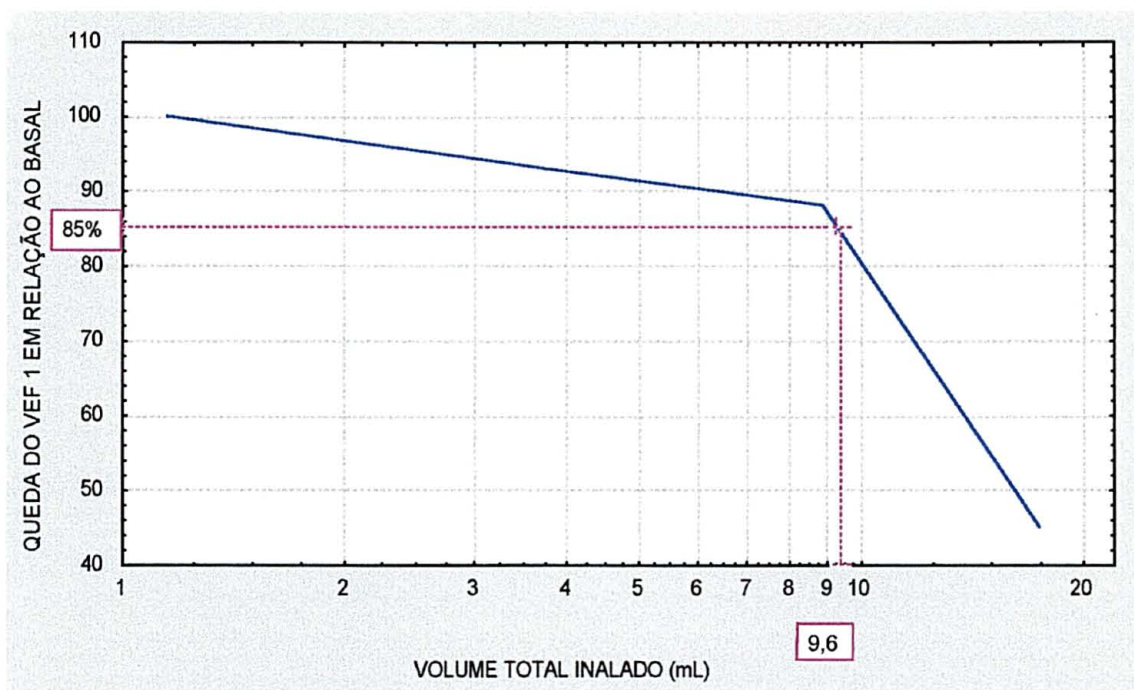


Figura 2 - Declínio de VEF_1 e volume acumulado de SH em cada tempo de inalação, em asmático com provocação positiva aos 4 minutos (PD 15).

- Reprodutibilidade - alguns testes de provocação brônquica causam um período de refratariedade maior que outros, (21) bem como o indivíduo pode expressar diferentes respostas dependendo do momento da realização do teste. A reprodutibilidade precisa ser calculada por métodos estatísticos validados, protocolos adequados, experiência do técnico e do paciente, bem como estabilidade clínica do paciente.
- Função pulmonar basal - existe associação entre responsividade e o calibre basal de vias aéreas. (21) Quanto menor o calibre, maior a responsividade e sensibilidade ao agente provocador.

- Interpretação (18) - Utilizada como informação adicional ao diagnóstico clínico, particularmente em pacientes sem documentação de obstrução de vias aéreas. Hiperresponsividade não é um diagnóstico isolado e sim um distúrbio funcional que reflete um potencial de obstrução variável de vias aéreas. A somatória da hiperresponsividade e sintomas recentes de sibilância (dentro do ano anterior) tem sido utilizada como padrão ouro para definir asma, em estudos epidemiológicos. (18)

3.6 Indicações Clínicas:

- Diagnóstico - serve para confirmar a doença na presença de sintomas típicos de asma, e também para afirmar a doença em pacientes com sintomas compatíveis com asma, mas com espirometria de repouso normal. O teste serve mais para exclusão de asma, do que para confirmação, devido a sua alta especificidade. Teste negativo em paciente sintomático, praticamente exclui a doença. Na asma sazonal, o teste pode ser negativo quando é realizado fora do período de maior sintomatologia.
- Asma ocupacional - relação causa / efeito ou melhor, inalantes ocupacionais e doença respiratória.
- Gravidade da asma - é imprecisa a correlação entre a responsividade brônquica e a gravidade da asma.
- Monitoramento de tratamento (22) - o melhor tratamento para asma é aquele que reverte à obstrução, e melhora a inflamação brônquica e a hiperresponsividade. No futuro, estudos deverão demonstrar a normalização da

hiperresponsividade brônquica após o tratamento, e será uma avaliação rotineira no tratamento da asma, porém até o momento, não oferece vantagens adicionais sobre a rotineira avaliação e acompanhamento clínico (controle dos sintomas, redução da frequência do uso de medicação de alívio, tolerância ao exercício, qualidade de vida, etc).

- Aplicações em pesquisas - os testes de provocação são utilizados como pesquisa da fisiopatologia e modulação farmacológica para o desenvolvimento de drogas antiasmáticas.

4 PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA OSMÓTICA OU NÃO-ISOTÔNICA OU HIPERTÔNICA (SH)

Nos últimos anos devido à dificuldade de acesso a agentes farmacológicos como a metacolina(23) e também pela procura de agentes provocadores que mimetizem as situações reais a que o aparelho respiratório é submetido, iniciou-se uma busca por agentes provocadores alternativos. O primeiro relato da utilização de solução salina hipertônica foi em 1981 por *SCHOEFFEL e cols* que demonstraram que a inalação desta substância causaria uma crise num paciente com asma.(24) A partir daí houve grande interesse por substâncias que alterassem a osmolaridade do trato respiratório, substâncias estas hipotônicas ou hipertônicas, comprovadamente agentes potentes na indução de broncoespasmo na maioria dos pacientes.(25,26,27) A sensibilidade do trato respiratório de asmáticos à mudança da osmolaridade, tem sido um importante avanço no conhecimento de fatores desencadeadores na asma.(25)

4.1 Mecanismos pelos quais aerossóis não-isotônicos causam estreitamento da via aérea. (25)

A alteração de osmolaridade causa degranulação de mastócitos com liberação de mediadores que causam resposta inflamatória. Os mastócitos estão presentes no fluido resultante do lavado broncoalveolar de pacientes com asma, e acredita-se que estão localizados superficialmente no lúmen e abaixo do epitélio, próximo aos vasos sanguíneos.

Mudança na osmolaridade no fluido periciliar poderia estimular as células epiteliais a produzirem substâncias capazes de causar contração do músculo liso brônquico, inflamação, e aumento de permeabilidade capilar.

A mudança de osmolaridade também estimula o nervo vago.

4.2 Fatores que interferem na resposta a provocação brônquica não-isotônica.

O mecanismo da hiperresponsividade é bloqueado pela administração de corticóides inalatórios, cromoglicato dissódico, nedocromil e furosemida, drogas que afetam a resposta dos mediadores provenientes dos mastócitos e também a atividade neural não-colinérgica.(27)

- **Características do aerossol** (28) - cada nebulizador produz partículas de tamanhos diferentes. O nebulizador DeVilbiss Ultraneb produz partículas com diâmetro aerodinâmico de massa entre 0,5-5 micra (média 2,8).
- **Tipo e débito do nebulizador** - Frequência acústica do transdutor, tolerância, voltagem e nível de solução são fatores que influenciam o débito. O aquecimento da solução faz variar o débito, mas isto não interfere no teste quando há reposição da solução até o volume inicial.(28) O débito também varia quando o nebulizador esta conectado ou não ao paciente, pois o ciclo respiratório (inspiração e expiração) facilita ou dificulta o fluxo, podendo haver diferença de até 50%. Conforme o nebulizador poderemos ter um débito que varia de 0,4 a 2,5 mL/minuto, como exemplo, os nebulizadores Pari e DeVilbiss Ultraneb, respectivamente.

- **Modelos de respiração** - tanto crianças maiores como menores de 12 anos, recebem a mesma dose de medicação. Crianças maiores de 12 anos têm maior fluxo inspiratório com utilização de todo o débito do nebulizador, incluindo a entrada de ar ambiente. Crianças pequenas apresentam menor fluxo inspiratório devido ao menor diâmetro de vias aéreas, por isto, respiram menor quantidade da medicação(29), mas como não há entrada de ar ambiente, recebem assim a medicação de forma mais concentrada. Conseqüentemente, igualam-se as quantidades de aerossol inalado, não necessitando adaptação das doses entre as diferentes faixas etárias. (28)
- **Função pulmonar e idade dos pacientes** - há clara relação entre o grau de hiperresponsividade e o diâmetro das vias aéreas, sugerindo que a geometria das vias aéreas estaria envolvida no mecanismo de hiperresponsividade.(5) Neonatos têm responsividade aumentada como uma característica habitual, possivelmente por ação de fatores genéticos, ambientais e calibre de vias aéreas, que ao longo do crescimento, decresce até chegar a níveis normais.

Quanto maior a idade, menores são os problemas de tolerabilidade ao sal e menor o erro decorrente de falta de habilidade na execução da espirometria.

- **Outros fatores (30)**

Há fatores que interferem nos resultados da provocação brônquica. Os **fatores pré-testes** que aumentam os resultados da provocação são: infecção respiratória recente nas 6 semanas anteriores, vacina para *Influenza* nas 3 a 6 semanas anteriores, exposição ao alérgeno com resposta tardia de 1 a 3 semanas anteriores, sensibilizantes ocupacionais nos meses anteriores e inalação passiva de

tabaco nas 2 a 4 horas anteriores. **Fatores pré-testes** que diminuem são: ingestão de medicamentos, tais como beta-agonistas até 4 a 12 horas, antihistamínicos até 48 horas, anticolinérgicos até 18 horas, corticosteróides inalatórios de 8 a 48 horas anteriores, teofilina até 48 horas e esteroides (não sabemos qual o uso mínimo para haver interferência). No dia do teste, há maior responsividade em alguns horários, como pela manhã e a noite. **Durante o teste**, o agente broncoconstritor utilizado, o nebulizador e sistema de fornecimento, os modelos de resposta, o horário da medicação, a função pulmonar do paciente e análise dos dados são fundamentais para o método de provocação brônquica.

4.3 Classificação da hiperresponsividade.

O grau de hiperresponsividade brônquica pode ser classificado, utilizando a PD₂₀ como referência em, grave com volume menor de 2 ml, moderada com volume entre 2 e 6 ml, e leve com volume maior de 6 ml, no entanto essa medida pode ser influenciada pelo débito do nebulizador. (4) Quando se usa PD₁₅ há um desvio da curva para a esquerda, mas estes limites para PD₂₀ podem ser mantidos, com a mesma graduação da HRB.

Resumindo, o estudo da responsividade brônquica aos diferentes estímulos, tem ajudado em muito, o conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos da asma, bem como, os medicamentos necessários para o controle da doença. A demonstração de hiperresponsividade de vias aéreas é útil para a identificação de prováveis asmáticos em estudos epidemiológicos e mesmo antes do aparecimento de sintomas típicos.(18)

5 REFERÊNCIAS:

1. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma 2002. **J Pneumol** 2002; 28: S2-S28.
2. Wojnarowski C, Van's Gravesande S, Riedler J, Eichler I, Gartner C, Frischer T. Comparison of bronchial challenge with ultrasonic nebulized distilled water and hypertonic saline in children with mild-to-moderate asthma. **Eur Respir J** 1996; 9: 1896-901.
3. Strauch E, Neupert T, Ihorst G, Van's Gravesande KS, Bohnet W, Hoeldke B, et al. Bronchial hyperresponsiveness to 4,5% hypertonic saline indicates a past history of asthma-like symptoms in children. **Pediatr Pulmonol** 2001; 31: 44-50.
4. Riedler J, Gamper A, Eder W, Oberfeld G. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness to 4,5% saline and its relation to asthma and allergy symptoms in Austrian children. **Eur Respir J** 1998; 11: 355-60.
5. Lemanske RF. Patterns of airway responsiveness. **J Allergy Clin Immunol** 1990; 86:653-56.
6. Martin RJ .Therapeutic significance of distal airway inflammation in asthma. **J Allergy Clin Immunol** 2002;109:447-60.
7. Haley KJ, Sunday ME, Wiggs BR, Kozakewich HP, Reilly JJ,Mentzer SJ, et al. Inflammatory cell distribution within and along asthmatic airways. **Am J Respir Crit Care Med** 1998; 158:565-72.
8. Djukanovic R. Airway inflammation in asthma and its consequences: implications for treatment in children and adults. **J Allergy Clin Immunol** 2002;109:539-48.
9. Chetta A, Foresi A, Del Donno M, Consigli GF, Bertorelli G,Pesci A, et al. Bronchial responsiveness to distilled water and methacholine and its relationship to inflammation and remodeling of the airways in asthma. **Am J Respir Crit Care Med** 1996; 153:910-7.
10. Sutherland ER, Martin RJ. Distal lung inflammation in asthma. **J Ann Allergy Asthma Immunology** 2002;89:119-24.

11. Carroll N, Elliot J, Morton A, James A. The structure of large and small airways in nonfatal and fatal asthma. **Am J Respir Crit Care Med** 1993;147:405-10.
12. Pin I, Radford S, Kolendowicz R, Jennings B, Denburg JÁ, Hargreave FE, Dolovich J. Airway inflammation in symptomatic and asymptomatic children with methacholine hyperresponsiveness. **Eur Respir J** 1993;6:1249-56.
13. Burney PGJ, Anderson HR, Burrows B, Chan-yeung M, Pride NB, Speizer FE. Atopy and risk factors of asthma in: **The role of inflammatory processes in airway hyperresponsiveness**. 1st edition, London. Holgate ST. Blackwell Scientific Publications. 1989;222-6.
14. Ahlstedt, S. Understanding the usefulness IgE blood tests in allergy. **Clin Exp Allergy** 2002; 1:11-8.
15. Camelo-Nunes IC, Sole D. Asma e hiperreatividade brônquica. **Rev Brasil Alerg Immunopatol** 2002;25:42-50.
16. Burke CM, Sreenan S, Pathmakanthan S, Patterson J, Schmekel B, Poulter LW. Relative effects of inhaled corticosteroids on immunopathology and physiology in asthma: a controlled study. **Thorax** 1996;51:993-99.
17. Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PhH, Cockcroft DW, O'Byrne PM, Anderson SD, et al. Airway responsiveness: Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. **Eur Respir J Suppl** 1993;6: 53-83.
18. Cockcroft DW. Airway Responsiveness. **Asthma / Barnes, P.J.** (1st Ed.) 1997; 88-89 / 1253-66.
19. Frey U. Effects of deep inhalations on bronchial reactivity in pediatric asthma (editorial). **Pediatr Pulmonol** 2002;33:409-10.
20. Lis G, Pietrzyk JJ. Response-dose ratio as an index of bronchial responsiveness to hypertonic saline challenge in an epidemiological survey of asthma in polish children. **Pediatr Pulmonol** 1998; 25: 375-82.

21. Ichinose M, Takahashi T, Sugiura H, Endoh N, Miura M, Mahito Y, Shirato K. Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component: role of airway inflammation and airway calibre. **Eur Respir J** 2000;15:248-53.
22. Leuppi JD, Brannan JD, Anderson SD. Bronchial provocation tests: The rationale for using inhaled mannitol as a test for airway hyperresponsiveness. **Swiss Med Wkly** 2002; 132:151-58.
23. Anderson SD, Smith CM, Rodwell LT, du Toit JI, Riedler J, Robertson CF. The use of nonisotonic aerosols for evaluating bronchial responsiveness. In: Spector S. (ed) **Provocation testing in clinical practice**. New York: Marcel Dekker, inc. 1995.p.249-78.
24. Riedler J, Reade T, Robertson CF. Repeatability of response to hypertonic saline aerosol in children with mild to severe asthma. **Pediatr Pulmonol** 1994;18:330-36.
25. Smith CM, Anderson SD. Inhalation provocation tests using nonisotonic aerosols (review). **J Allergy Clin Immunol** 1989;781-90.
26. Anderson SD, Schoeffel RE, Finney M. Evaluation of ultrasonically nebulised solutions for provocation testing in patients with asthma. **Thorax** 1983;38:284-91.
27. Rodwell LT, Anderson SD, Du Toit J, Seale JP. Nedocromil sodium inhibits the airway response to hyperosmolar challenge in patients with asthma. **Am Rev Respir Dis** 1992; 146: 1149-55.
28. Riedler J, Robertson CF. Effect of tidal volume on the output and particle size distribution of hypertonic saline from an ultrasonic nebulizer. **Eur Respir J** 1994;7:998-1002.
29. Cole CH. Special problems in aerosol delivery: neonatal and pediatric considerations. **Respir Care** 2000;45:646-51.
30. Weeke B, Madsen F, Frolund L. Reproducibility of challenge tests at different times. **Chest**.1987;91:83s-9s.

2ª Parte

Versão preliminar do artigo original no formato:

JORNAL DE PNEUMOLOGIA - Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de
Pneumologia e Tisiologia.

**AVALIAÇÃO DA HIPERRESPONSIVIDADE
BRÔNQUICA À SOLUÇÃO SALINA
HIPERTÔNICA EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES**

SUMÁRIO II

Lista de Tabelas	33
Listas de Figuras	33
Listas de Abreviaturas	34
Resumo	35
Abstract	36
1 INTRODUÇÃO	37
2 OBJETIVO	39
3 MÉTODOS	40
3.1 Material	40
3.2 Delineamento	41
3.2.1 Participantes	43
3.2.2 Diagnóstico de Asma	44
3.2.3 Dosagem de IgE específica	44
3.2.4 Método de avaliação da função pulmonar e método de provocação brônquica com solução salina hipertônica	44
3.2.5 Método de cálculo da PD 15.	46
3.2.6 Índice de responsividade	46
3.2.7 Análise estatística	46
4 RESULTADOS	48
5 DISCUSSÃO	58
6 REFERÊNCIAS	64
ANEXOS PARTE II	67

**AVALIAÇÃO DA HIPERRESPONSIVIDADE BRÔNQUICA À
SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES.**

**HYPERTONIC SALINE CHALLENGE TEST IN BRONCHIAL
HYPERRESPONSIVENESS IN CHILDREN AND
ADOLESCENTS.**

Paulo Kussek¹, Nelson Augusto Rosario Filho².

1. Especialista em Pneumologia Pediátrica pela SBP e SBPT
Mestrando, curso pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente,
UFPR.
2. Professor Titular de Pediatria , Universidade Federal do Paraná.

paulokussek@ibest.com.br

- 1 Correspondência:
Rua Pasteur, 255
Bairro Batel – Curitiba – Paraná
Fone/fax- 41-322-4322 / 224-8494

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características clínicas e antropométricas dos participantes.....	48
Tabela 2 - Frequência de asmáticos com declínio de 15% ou mais nos diferentes tempos de inalação.....	51
Tabela 3 - Volumes totais acumulados inalados de solução salina hipertônica em cada grupo após a conclusão do teste (média \pm desvio padrão)	53
Tabela 4 - Índice de responsividade brônquica nos participantes	54
Tabela 5 - Hiperresponsividade brônquica em indivíduos com elevação do nível sérico de IgE específica ao Dp.....	56
Tabela 6 - Características do grupo de asmáticos com provocação positiva e negativa com relação à gravidade e tratamento.....	57

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da provocação brônquica com SH	42
Figura 2 - Representação em Box Plot da porcentagem de declínio do VEF ₁ em relação aos valores basais nos grupos	50
Figura 3 - Médias dos volumes inalados acumulados de SH em cada tempo de inalação nos 3 grupos	52
Figura 4 - Probabilidade de provocação brônquica positiva pelo Índice de responsividade	54
Figura 5 - Frequência de indivíduos com provocação positiva ou negativa em relação ao nível sérico de IgE específica ao Dp (em classes)	55

LISTA DE ABREVIATURAS

UFPR =	Universidade Federal do Paraná
SBP=	Sociedade Brasileira de Pediatria
SBPT=	Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia
SH=	Solução salina hipertônica
HRB=	Hiperresponsividade brônquica
VEF ₁ =	Volume expiratório forçado no primeiro segundo.
PB =	Provocação brônquica
Dp =	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
DP =	Desvio Padrão
Perc=	Percentil
IgE=	Imunoglobulina E
IM=	Intermitente
PL=	Persistente leve
PM=	Persistente moderada
PG=	Persistente grave
mL =	Mililitros
+ =	Positiva
- =	Negativa
β ₂ =	Broncodilatador
SSI =	Solução salina isotônica
PC15=	Concentração de SH que causa 15% de queda do VEF ₁ em relação ao basal (concentração provocadora)
PD15=	Volume de SH que causa 15% de queda do VEF ₁ em relação ao basal (dose provocadora)
IR =	Índice de Responsividade

RESUMO

Avaliação da hiperresponsividade brônquica à solução salina hipertônica em crianças e adolescentes.

Introdução -A Hiperresponsividade Brônquica (HRB) é uma característica da asma. A inalação de solução salina hipertônica (SH) serve para medir a HRB, pois reproduz certas condições as quais o epitélio respiratório é submetido, como acontece no exercício físico.

Objetivo- Avaliar a hiperresponsividade das vias aéreas à solução salina hipertônica a 4,5% como método alternativo a outros agentes broncoconstritores.

Métodos- Estudo transversal, experimental, com 85 indivíduos constituindo: 45 no grupo de asmáticos, 17 no grupo controle e nove no grupo de alérgicos não-asmáticos que completaram o teste. Para nebulizar a SH foi utilizado nebulizador ultrassônico de grande volume (DeVilbiss), sucessivamente durante 0,5 , 1, 2, 4, 8 minutos até haver queda \geq a 15% em relação VEF₁ basal. A dosagem de IgE específica ao *Dermatophagoides pteronyssinus* por ImmunoCap, foi considerada positiva quando IgE > 0,35 KU/L.

Resultados – No grupo de asmáticos, 36 apresentaram queda média do VEF₁ de 27,4% (variação de 4% no IC 95%) após nebulização de SH. Nenhum do grupo controle (IgE <0,35 KU/L) apresentou resposta a SH com queda média de 9%. Nove asmáticos tiveram provocação brônquica (PB) negativa. No grupo de alérgicos não-asmáticos dois indivíduos tiveram PB positiva. A frequência de PB positiva foi maior nos indivíduos com IgE específica elevada, indicando uma relação entre hiperresponsividade brônquica e o nível sérico de IgE específica. Não houve efeitos colaterais graves.

Conclusões- A inalação de solução salina hipertônica é um método útil de broncoprovocação e bem aceito para acessar hiperresponsividade, além do baixo custo e necessidade de poucos equipamentos adicionais.

Descritores- Provocação brônquica, Solução salina hipertônica, asma.

ABSTRACT

HYPERTONIC SALINE CHALLENGE TEST IN BRONCHIAL HYPERRESPONSIVENESS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS.

Background- Bronchial hyperresponsiveness (BHR) is a feature of asthma. Inhalation of hypertonic saline (HS) is used to measure BHR, likely to reproduce some conditions that respiratory epithelium is submitted at physical exercise.

Objective- To assess airway hyperresponsiveness to 4,5% saline hypertonic solution as an alternative challenge to other agents.

Methods- Cross-sectional study, experimental, with 85 subjects divided as follows: 45 in the asthmatic group, 17 in the control group and nine in the non-asthmatic allergic group who concluded the test. Inhalation of HS was obtained by large volume ultrasonic nebulizer (DeVilbiss), continuously through 0,5, 1, 2, 4, 8 minutes until a FEV₁ fall of $\geq 15\%$ in relation to baseline. *Dermatophagoides pteronyssinus* specific IgE level were measure by ImmunoCap, considered positive when Ig E > 0,35 kU/L.

Results – In the asthmatic group, 36 had a mean fall of 27,4% (4% CI 95%) after HS nebulization. None of control group (IgE <0,35 KU/L) showed positive answer to HS with mean fall of 9%. Nine asthmatic subjects had negative bronchial provocation test (BP). In the non-asthmatic allergic group , 2 had positive BP. The frequency of positive BP was higher in the group of individuals with higher levels of specific IgE, showing a relation between bronchial hyperresponsiveness and the level of specific IgE. No severe adverse effects occurred.

Conclusions- the inhalation of hypertonic saline solution is a useful bronchial provocation test and accepted to assess hyperresponsiveness, moreover is cheap and requires few equipment.

Key words: bronchial provocation tests, challenge tests, hypertonic saline, asthma.

1 INTRODUÇÃO

A asma é ocasionada pela interação de fatores genéticos e ambientais, tendo como característica a ocorrência recidivante de espasmo brônquico. A doença é resultado do aumento da resposta de mecanismos fisiológicos de proteção das vias aéreas, chamada de **hiperresponsividade brônquica** (1).

Atualmente existem vários métodos para quantificar a hiperresponsividade, sendo o mais aceito, mais barato e de fácil execução, a prova de função pulmonar (espirometria) associada ao método de provocação brônquica para induzir broncoconstrição. A hiperresponsividade do trato respiratório está fortemente associada à asma. Testes de provocação com histamina ou metacolina, exercícios físicos, inalação de ar frio sob hiperventilação e inalação de solução não isotônica têm sido utilizados como marcadores objetivos de asma (2). O método “padrão ouro” é a provocação brônquica que utiliza agentes farmacológicos como a metacolina e histamina,(3) que agem diretamente em receptores do músculo liso brônquico.

Nos últimos anos, pela dificuldade de acesso a agentes farmacológicos como a metacolina (4) e também devido à procura de agentes provocadores que mimetizem as situações diárias as quais o aparelho respiratório é submetido, iniciou-se uma busca por agentes provocadores alternativos. O primeiro relato da utilização de solução salina hipertônica foi em 1981 por *SCHOEFFEL e cols* que demonstraram que a inalação desta substância causaria crise em paciente com asma.(5) A partir daí, houve grande interesse por substâncias que

alterassem a osmolaridade do trato respiratório, substâncias estas hipotônicas ou hipertônicas, comprovadamente potentes agentes na indução de broncoespasmo na maioria dos pacientes(6). A sensibilidade do trato respiratório de asmáticos à mudança da osmolaridade, tem auxiliado no conhecimento de fatores desencadeadores da asma.(6). Provocação brônquica por exercício e inalação salina hipertônica são métodos osmóticos utilizados na avaliação da hiperresponsividade do trato respiratório.

É possível que o estímulo mais importante para a asma induzida por exercício seja a hiperosmolaridade do fluido que reveste o trato respiratório. Durante o exercício ocorre um aumento da perda de água das vias aéreas para o meio exterior decorrente da hiperpnéia fisiológica.(7) A inalação de solução salina hipertônica reproduz este mecanismo, com as vantagens de ser realizada com volume corrente e não necessitar de colaboração do paciente em atingir a carga máxima de esforço. O estímulo osmolar parece não agir diretamente em receptores do músculo liso, mas provavelmente estimula a liberação de mediadores das células da mucosa brônquica que direta ou indiretamente causam a contração do músculo liso. (6)

2 OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi avaliar a hiperresponsividade das vias aéreas pela inalação de solução salina hipertônica, como alternativa à provocação brônquica por outros agentes.

3 MÉTODOS

3.1 Material

A solução salina hipertônica apresenta maior osmolaridade exigindo assim um nebulizador mais potente. Para tanto foi utilizado o **Nebulizador ultrassônico DeVilbiss Ultraneb 099 HD** com 10 bucais com válvula expiratória, e mangueira em espiral com diâmetro de 22 mm e extensão de 102 cm. (anexo 9) Este nebulizador ultrassônico é de grande volume (240mL), e segundo o fabricante, quando nebuliza soro fisiológico a 0,9% apresenta débito de 6 mL/min e produz aerossóis densos com tamanho de partículas respiráveis (menores de 4 micra). (anexo 10)

A **solução salina hipertônica (SH)** foi preparada em câmara de fluxo laminar vertical classe 100 – II/B2. Para preparar a solução na concentração de 4,5%, adicionou-se 45 gramas de cloreto de sódio a 1000 ml de água destilada esteril, sem pirógeno, acondicionada em frasco-ampola fechado com orifício emborrachado de perfuração para retirada da solução. Foi iniciado o procedimento com retirada de 225 ml do volume do frasco-ampola de água destilada contendo 1000 ml, e repondo 225 ml sob a forma de cloreto de sódio a 20 %(45 gramas). A solução foi mantida no refrigerador e retirada horas antes do exame para estar à temperatura ambiente (20-25 °C) durante o teste. O tempo entre a primeira e a última retirada de SH para o teste, não ultrapassou 24 horas, pois o volume foi suficiente somente para 3 a 4 testes.

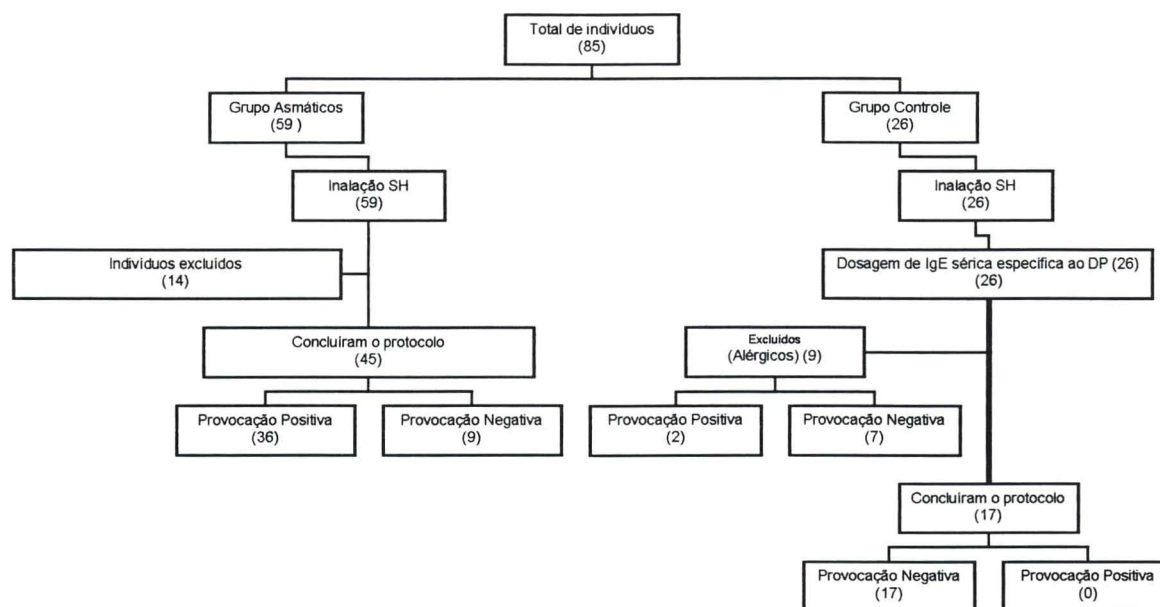
Foi utilizado o **Espirômetro Spirosift 3000 – Fukuda Denshi** com pneumotacógrafo de Fleisch (Fluxo de 0-14 L/segundos, volume de 0 a 8 L). Os valores normais de referência foram os de **Polgar e Promadaht.**(8) Foi utilizado também um cronômetro, clips nasais, termômetro de ambiente de amplitude -30 a $+50^{\circ}\text{C}$, estetoscópio pediátrico, balança Filizola para pesar e verificar altura dos participantes (peso de 2 a 150 kg e altura de 0,96 a 2 metros). Foi utilizado também balança digital de precisão para pesar o nebulímetro, de marca GEHAKA BG 1000 com limites mínimo de 0,25 g e máximo de 1010 gr, e divisões de 0,01 g.

A medicação broncodilatadora foi administrada sob a forma de aerossol (Aerolin ® spray 100 mcg/ jato) para reverter o broncoespasmo na dose de 400 microgramas quando necessário.

3.2 Delineamento

Estudo transversal, controlado, experimental, não randômico. Realizado entre maio e setembro de 2003, do qual participaram 85 indivíduos com idade entre de 7 e 16 anos.

Figura 1 - Fluxograma da provocação brônquica com SH.



Os asmáticos foram selecionados dos ambulatórios especializados do Hospital Pequeno Príncipe e Hospital de Clínicas. Os indivíduos do grupo controle foram convocados de uma escola pública de segundo grau. Os pacientes eram previamente submetidos a anamnese médica e exame físico, sendo posteriormente distribuídos nos 2 grupos, dentro dos critérios de inclusão e exclusão.

Os sujeitos da pesquisa foram convocados aleatoriamente conforme a disponibilidade de tempo, iniciando pelo grupo de asmáticos, controle e por último o grupo de obesos. Os testes foram realizados pela manhã entre 8 e 10:30 hs, com temperatura ambiente verificada e registrada. Durante a realização do estudo formou-se um terceiro grupo, o qual chamamos de “Alérgicos”, composto por indivíduos do grupo controle excluídos unicamente por apresentarem altos níveis de anticorpos IgE específico ao Dp. Todos os participantes seguiram o mesmo protocolo.

3.2.1 Participantes

Foram incluídos asmáticos com idade entre 7 a 16 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de asma há mais de 1 ano, com história de crise de sibilância nos últimos 12 meses, com VEF₁ no dia do teste maior ou igual a 75%, pelo risco de ocorrer grave broncoespasmo durante o experimento; com suspensão da medicação conforme orientação. Por motivos éticos a medicação profilática foi suspensa somente no período do exame, seguindo a meia vida de cada fármaco: antihistamínicos em 48 horas, teofilina por 24 horas, β_2 -adrenérgico por 24 horas e corticóides inalatórios por 48 horas.(4)

No grupo controle foram incluídos indivíduos com idade entre 7 a 16 anos, de ambos os sexos, sem tosse crônica, ou noturna, ou sibilos, sem dermatite atópica, ou sinais de alergia respiratória (rinite alérgica), sem história de uso de qualquer broncodilatador, sem história familiar de asma, com nível sérico de IgE específico ao Dp menor de 0,35 kU/L.

Todos os participantes dos 2 grupos não deveriam ter história de infecções respiratórias nas 4 semanas anteriores ao teste, teriam habilidade em executar as manobras expiratórias exigidas na prova de função pulmonar, não fizeram uso de alimentos ou medicamentos com cafeína nas 12 horas precedentes à espirometria basal e broncoprovocação.(9)

O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC/UFPR e o consentimento informado foi obtido dos responsáveis pelos participantes.

3.2.2 Diagnóstico de asma

O diagnóstico de asma bem como a classificação da gravidade, foram baseados em manifestações clínicas (incluindo avaliação da alergia) e funcionais, de acordo com o III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma (10), antes de iniciar o tratamento.

3.2.3 Dosagem de IgE específica

Níveis séricos de IgE específica para *Dermatophagoides pteronyssinus* foram determinados pelo método de fluoroenzimaensaio de Pharmacia Cap System. O teste pelo UniCAP quantifica o grau de sensibilização em classes: classe 0 - menor que 0,35 kU/L; classe 1 - 0,35 a 0,70 kU/L; classe 2 - 0,70 a 3,50 kU/L; classe 3 - 3,50 a 17,5 kU/L; classe 4 - 17,5 a 50,0 kU/L; classe 5 - 50,0 a 100 kU/L; classe 6 - maior que 100 kU/L (valores indicados pelo fabricante). O indivíduo foi considerado sensibilizado quando os níveis de IgE eram superiores a 0,35 kU/L (classe 1) (11).

3.2.4 Método de avaliação da função pulmonar e método de provocação brônquica com solução salina hipertônica

Foram verificados peso e altura dos pacientes, e explicada a técnica das manobras expiratórias necessárias à realização do teste de função pulmonar, com pelo menos uma espirometria antes da basal, para ter resultados reprodutivos, seguindo Diretrizes para teste de função pulmonar 2002 (1) e não podendo apresentar VEF₁ menor de 75% no dia do teste. O participante respirou ar ambiente

com clip nasal, realizou 2 manobras de expiração forçada, optando-se pela que tivesse maior valor de VEF_1 , com diferença menor de 5% entre as manobras.

Iniciou-se a inalação com o nebulizador ultrassônico em débito máximo, com volume inicial de 240 ml, e peso inicial de 760 gramas do conjunto, nebulímetro, SH e mangueira. O nebulímetro foi pesado, antes e após o término de cada nebulização, com reposição de SH ao volume e peso inicial, pois o nível de fluido dentro do recipiente interfere com o débito. (12,13)

O participante sentado confortavelmente era encorajado a manter boa postura, para proporcionar a adequada administração da solução salina. Solicitou-se respirar normalmente pelo bucal com válvula expiratória, com clip nasal, evitando hiperventilação. A instrução era para deglutir o excesso de saliva, evitando assim que a saliva entrasse no tubo. A elevação do tubo acima da altura da boca do paciente e inversão do bucal com válvula expiratória para baixo, também foram procedimentos necessários a evitar que a saliva entrasse no tubo inalatório. A solução que permanecesse no tubo inalatório ao final de inalação era reincluída no volume do nebulímetro para posterior pesagem. A solução salina era retirada do frasco com seringa de 25 ml usando agulha estéril, mantendo em ar ambiente, mesmo durante a execução do teste. (12)

Cada indivíduo inalou durante 0,5, 1, 2, 4 e 8 minutos, totalizando 15,5 minutos. Técnica de uso de inalações crescentes encerrando-se o teste, quando havia declínio do VEF_1 igual ou maior de 15%, ou com o tempo máximo acumulado de 15,5 minutos. O total da substância inalada foi verificado pesando-se o nebulímetro com a mangueira após cada nebulização, verificando-se a diferença em

relação ao peso inicial. Para fins de cálculo foi arbitrado que 1 grama de perda corresponderia a 1 ml.(4)

A espirometria era realizada um minuto após o término da inalação, com duas manobras e uma terceira se necessário, com intervalo máximo de dois minutos entre as nebulizações.(6)

Concluído o teste, os participantes não foram liberados até que o broncoespasmo tivesse sido totalmente resolvido e a sintomatologia abreviada.

3.2.5 Método de cálculo da PD 15.

Foi construída uma curva de dose-resposta para cada indivíduo utilizando-se o gráfico semi-logaritmico com 3 ciclos e 70 divisões, registrando-se a queda do VEF_1 em relação ao basal após cada inalação no eixo Y, e o volume acumulado inalado no mesmo tempo de inalação no eixo X. Por interpolação verificou-se no eixo X a dose de solução salina a 4,5% (mL) que correspondia no eixo Y, à redução de 15% do VEF_1 em relação ao valor basal.

3.2.6 Índice de responsividade

É a relação do porcentual de redução máxima do VEF_1 em relação ao basal, pelo volume total inalado de SH.(4)

3.2.7 Análise estatística

Para o cálculo do tamanho da amostra foi considerado um erro de tipo I

máximo de 5% (alfa) e erro do tipo II máximo de 10%, com um poder de teste estimado mínimo de 80%.

Todos os dados coletados, foram digitados em planilha eletrônica (Microsoft Excel®), foram conferidos e exportados para o programa Statistica®.

As variáveis selecionadas para análise estatística foram inicialmente submetidas à avaliação de sua distribuição através de Testes de Normalidade, Coeficiente de Variação e Análise de Histogramas. Os dados de distribuição normal são apresentados através de médias e desvio padrão, enquanto os de distribuição assimétrica são apresentados sob valores de mediana, valores mínimo e máximo encontrados.

Os testes estatísticos aplicados foram selecionados de acordo com a distribuição das variáveis e seu caráter independente. Nas análises univariadas, para variáveis contínuas de distribuição normal, foram aplicados os testes paramétricos - teste t de Student e ANOVA (Análise da Variância), enquanto que para as variáveis de distribuição assimétrica, foi aplicado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Para a comparação entre variáveis categóricas foram utilizados os testes de qui-quadrado de Pearson e teste exato de Fisher de acordo com o tamanho da amostra.

A análise de Regressão Logística foi utilizada para avaliar a probabilidade de provocação brônquica ser positiva ou negativa, de acordo com o índice de responsividade.

Para todos foram utilizados os testes bicaudais, considerando que as diferenças poderiam estar distribuídas para ambos os lados da curva, com nível de significância mínimo de 5%.

4 RESULTADOS

Foram submetidos ao protocolo 85 crianças e adolescentes, constituindo três grupos: 45 no grupo de asmáticos e 17 no grupo controle que completaram o teste (Tabela 1). Foram excluídos 23 indivíduos, sendo seis por intolerância ao sal, cinco por falta de reprodutibilidade das manobras expiratórias, três excluídos por VEF₁ basal abaixo de 75%. Nove do grupo controle também concluíram o protocolo, mas apresentavam altos níveis séricos de anticorpos IgE específicos ao Dp, por isto foram incluídos num terceiro grupo chamado de “alérgicos”.

Tabela 1 – Características clínicas e antropométricas dos participantes.

Características	Asmáticos (n=45)		Controles (n=17)	Alérgicos (n=9)		p
Gênero						
Masculino	24		4	8		0,005*
Feminino	21		13	1		
Idade em anos ± DP	10,7 ± 2,2		13,2 ± 2,3	13,4 ± 1,4		0,0001**
Altura em cm ± DP	146 ± 0,13		158,3 ± 0,11	165,4 ± 0,03		0,0000**
VEF ₁ basal (% predito) ± DP	99,9 ± 15,3		105,3 ± 10,9	106,2 ± 8,9		0,248**
IgE Dp (kU/L)	PB + (26)	PB – (9)	PB – (17)	PB+ (2)	PB – (7)	0,006***
< 0,35	1	2	17	0	0	
> 0,35	1	0		0	0	0,004***
>0,70	24	7		2	7	
Média Geométrica	29,7	13,8		36,8	12,1	
Gravidade da asma □	PB + (36)	PB – (9)				1,00**
Intermitente	8 (22%)	1 (11%)				
Persistente leve	13 (36%)	2 (22%)				
Persistente moderada/grave	15(42%)	6 (67%)				

DP = desvio padrão; (%) = porcentagem; PB += provocação brônquica positiva; PB- = provocação brônquica negativa; Dp = *Dermatophagoides pteronyssinus*.

□ A gravidade da asma foi classificada de acordo com III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma 2002, antes de iniciar o tratamento.

* Teste Qui-quadrado de Pearson; ** Anova; *** Teste exato de Fisher.

Grupo de asmáticos

Dos 45 asmáticos, 36 tiveram provocação brônquica positiva (PB +) com queda média de VEF_1 de **27,4% (amplitude: 15 - 60%)**, com variação da média de $\pm 4\%$ (intervalo de confiança de 95%) após inalação de solução salina hipertônica. Destes 36 asmáticos, 27(75%) ainda apresentaram PB + quando o valor de declínio do VEF_1 foi considerado 20%. Vários participantes (36) exibiram sibilos á ausculta pulmonar, mas o teste não precisou ser interrompido em nenhum deles.

Nove indivíduos tiveram a provocação brônquica negativa (PB-) com redução máxima do VEF_1 de **14% (média: 9%, amplitude de 7-14%)** com variação da média de $\pm 1,7\%$ (intervalo de confiança de 95%) no tempo máximo de inalação de 15,5 minutos.

Grupo controle

Nesse grupo, a redução máxima do VEF_1 após a inalação da solução salina hipertônica no tempo máximo de 15,5 minutos foi de **13 % (média: 8,5%, amplitude: 3-13%)** com variação da média de $\pm 1\%$ (intervalo de confiança de 95%)

Grupo de alérgicos

Dos nove indivíduos deste grupo, dois tiveram PB + com queda média do VEF_1 basal de **21%** e nos demais a prova foi negativa.

Todos os participantes do grupo controle e asmáticos apresentaram tosse ao início da inalação e sialorréia durante a realização do protocolo, mas na progressão do experimento havia uma adaptação e os sintomas desapareciam.

Por tratar-se de uma variável (queda do VEF_1 em relação ao basal) e por não ter distribuição normal observado pelo teste W Shapiro-Wilk's, optou-se por um teste não paramétrico (Kruskal-Wallis) obtendo-se valor de H igual a 30,53 e valor de $p=0,000$ demonstrando que o grupo de asmáticos apresenta responsividade brônquica significativamente maior a SH do que o grupo controle (Figura 2).

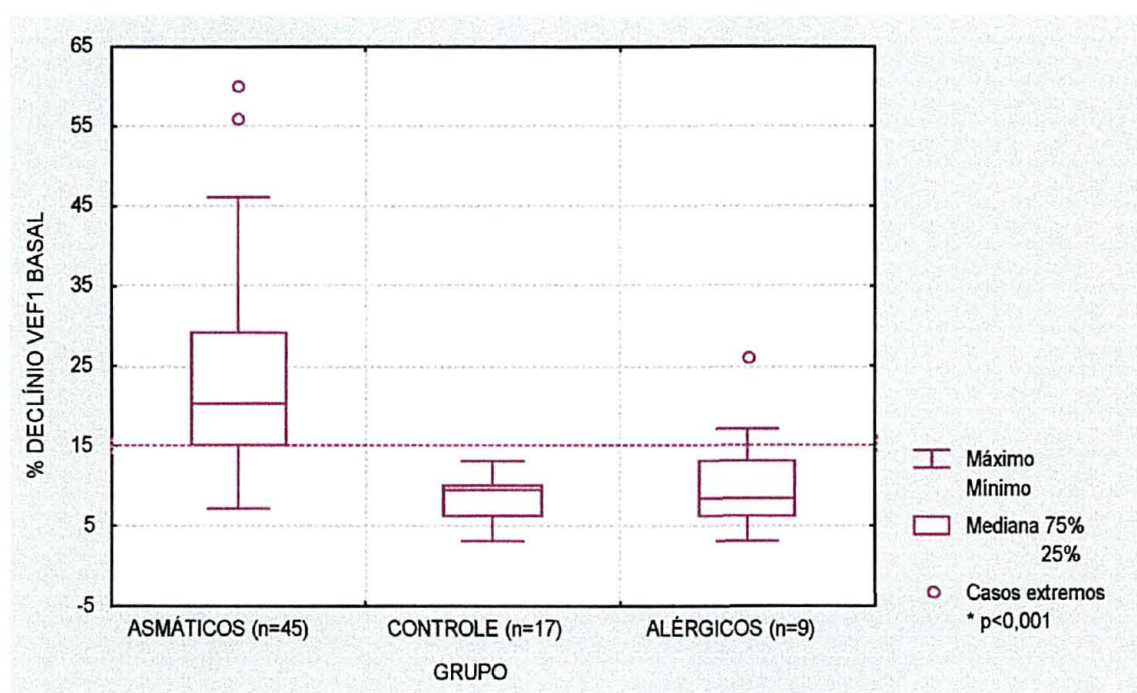


Figura 2 - Representação em Box Plot da porcentagem de declínio do VEF_1 em relação aos valores basais nos grupos. A linha vermelha representa redução de 15%.

Do total de asmáticos com PB+, 83% tiveram diminuição de pelo menos 15% do VEF₁ basal até o tempo de inalação de 4 minutos (tabela 2). Não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,66$) nas medianas de declínio do VEF₁ dos asmáticos separados pela gravidade da doença, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 2 - Frequência de asmáticos com declínio de 15% ou mais nos diferentes tempos de inalação.

Tempo de inalação (min)	n	Frequência acumulada	%	Frequência relativa acumulada
0,5	0	0	0	0
1	10	10	27,8	27,8
2	9	19	25	52,8
4	11	30	30,5	83,3
8	6	36	16,7	100
Total - 15,5	36	36	100	100

No grupo de asmáticos com provocação negativa (n=9) não houve diferença significativa dos valores medianos de declínio de VEF₁ e gravidade da asma ($p=0,32$).

Não houve variação significativa da temperatura ambiente durante a realização do teste de provocação brônquica nos diferentes grupos, com média de 20°C (□15 °C e □23 °C).

O nebulizador conectado ao paciente forneceu um débito médio de 2,2 mL/min. Não houve diferença significativa nos volumes inalados entre o grupo de asmáticos e controle nos tempos de inalação de 0,5 min, 1 min, 2 min, 4 min e 8 min. Analisando somente os indivíduos (n=32) que alcançaram todas as 5 inalações com PB positiva ou negativa, também não houve diferença estatisticamente significativa entre os

volumes inalados pelos 2 grupos. Entretanto, os volumes acumulados dos grupos de alérgicos e controle, diferem estatisticamente do grupo de asmáticos, pois nesses o teste era interrompido com a queda do VEF_1 (figura 3).

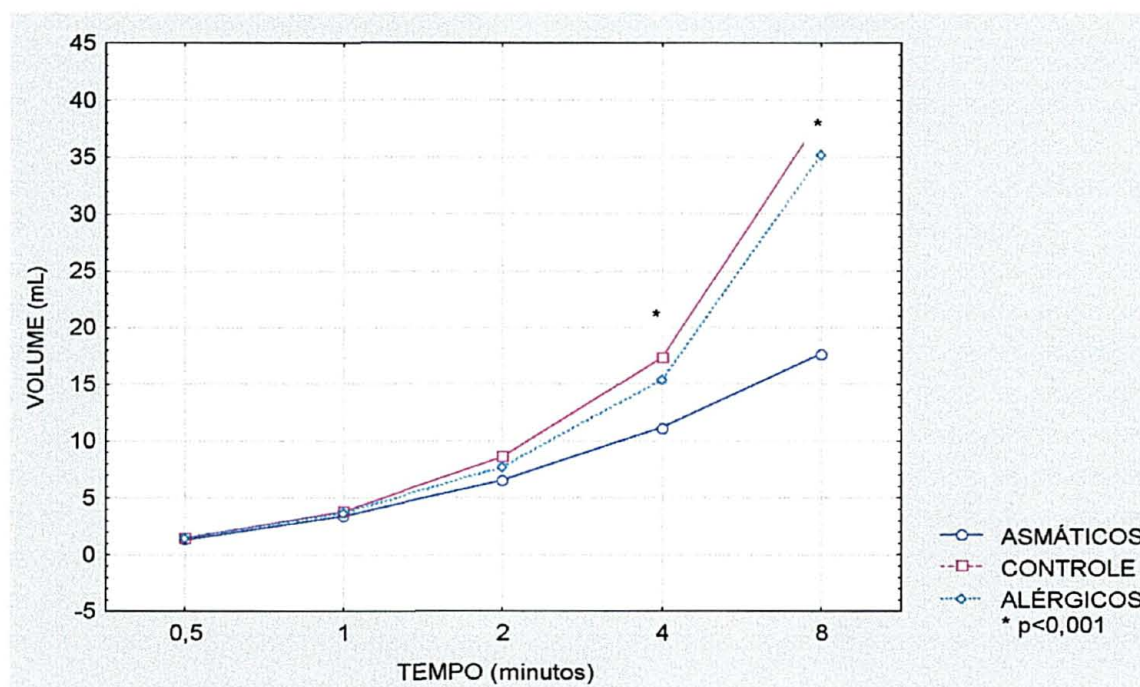


Figura 3 - Médias dos volumes inalados acumulados de SH em cada tempo de inalação nos 3 grupos.

Por haver interrupção do teste, quando positivo nos asmáticos, não foi possível correlacionar o volume de solução inalada com qualquer outra variável. Nos demais que inalaram a solução salina hipertônica até o tempo máximo (n=32), a análise da regressão múltipla não demonstrou correlação significativa do volume de solução inalada com as variáveis de idade, peso, VEF_1 basal e somente a altura teve alguma influência nos resultados ($r = 0,42$).

Somando-se a quantidade de solução salina inalada após cada tempo de inalação, verificou-se que a média de volume total inalado foi menor no grupo de asmáticos com PB positiva quando comparada a PB negativa, provavelmente pela interrupção do teste quando havia declínio de 15% do VEF₁ (tabela 3). Não havia diferença estatística entre o grupo controle e grupo de asmáticos com PB negativa.

Tabela 3 - Volumes totais acumulados inalados de solução salina hipertônica em cada grupo após a conclusão do teste (média \pm desvio padrão)

	Asmáticos (n=45)		Controle (n=17)	Alérgicos (n=9)	
Provocação Brônquica	Positivo (n=36)	Negativo (n= 9)	Negativo	Positivo (n=2)	Negativo (n=7)
Volume inalado (mL) \pm DP	13,8 \pm 12,9	32,4 \pm 11,7	38,4 \pm 10,2	32,6 \pm 22,3	35,7 \pm 8,3
Mínimo-máximo	(1,64 - 52,3)	(17,3 - 48,5)	(20 - 56)	(16 - 48)	(20,7 - 45,3)

A dose média de volume inalado de SH a 4,5%, que causou queda de 15% do VEF₁ basal nos asmáticos foi de 9,5 ml (erro padrão =1,8), ou seja, a média das PD 15.

ANDERSON e cols (4) classificaram a gravidade da hiperresponsividade conforme o volume total inalado que causava PD20, e nesse estudo quando utilizamos os mesmos valores de referência, mas para a PD15, teríamos hiperresponsividade intensa (volume < 2 ml) em 6 pacientes, moderada (volume entre 2,1 e 6 ml) em 14 e leve ((volume > 6 ml) em 16.

Índice de responsividade brônquica

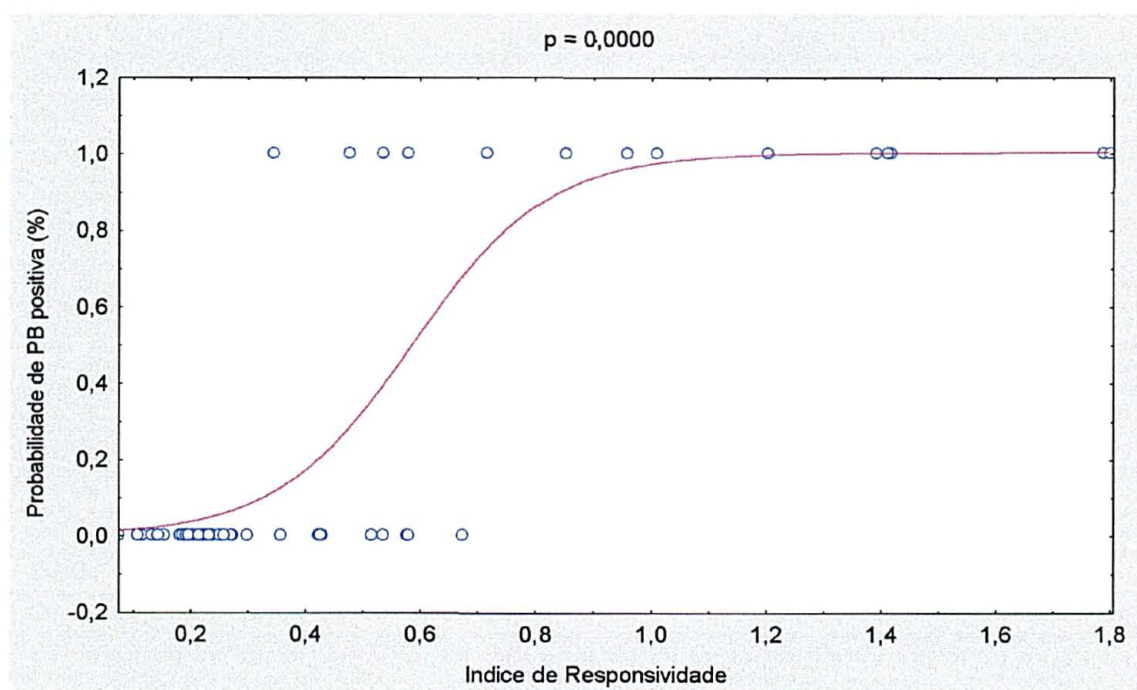
Esse índice correlaciona-se com a PD15 ($p < 0,001$, $r = - 0,98$), e está significativamente elevado nos asmáticos.(Tabela 4)

Tabela 4 - Índice de responsividade brônquica nos participantes.

Índice de Responsividade Brônquica	PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA	
	POSITIVA (n= 38)	NEGATIVA (n= 33)
Média ± DP	4,8 ± 6,29	0,28 ± 0,15
Mediana	2,65	0,22
IC 95%	(2,8-7,6)	(0,22-0,33)

IC= Intervalo de Confiança

O índice pode ser determinado em qualquer indivíduo, mesmo naquele onde não houve queda de 15% do VEF₁ em relação basal. Os participantes que tiveram PB negativa tiveram um índice inferior a 0,33 e naqueles com PB positiva, o índice foi superior a 1,2, formando uma faixa de sobreposição entre 0,33 e 1,2, incluindo tanto indivíduos com PB positiva ou negativa. A análise de regressão logística demonstrou a probabilidade da provocação brônquica ser positiva ou negativa pelos índices de responsividade. (Figura 4)

**Figura 4** - Probabilidade de teste de provocação brônquica positiva pelo Índice de responsividade

Alguns pacientes realizaram inalação com solução fisiológica (SF) a 0,9% antes da provocação com solução salina hipertônica com o objetivo de verificar a diferença entre VEF₁ basal e VEF₁ pós-inalação, tendo como resultado valores semelhantes, com diferença próxima a esperada na reprodutibilidade das manobras expiratórias.

Provocação brônquica e atopia

Os níveis séricos de IgE específica ao Dp foram maiores nos indivíduos com teste de provocação brônquica positiva. Além disso, 93% dos indivíduos com PB + apresentavam níveis acima de 0,70 kU/L, ao contrário dos indivíduos com PB – onde somente 42% apresentavam os mesmos níveis. (Tabela 1 e Figura 5). Verificou-se que quanto maior o nível sérico de IgE específica ao Dp maior a responsividade brônquica a SH. (Figura 5)

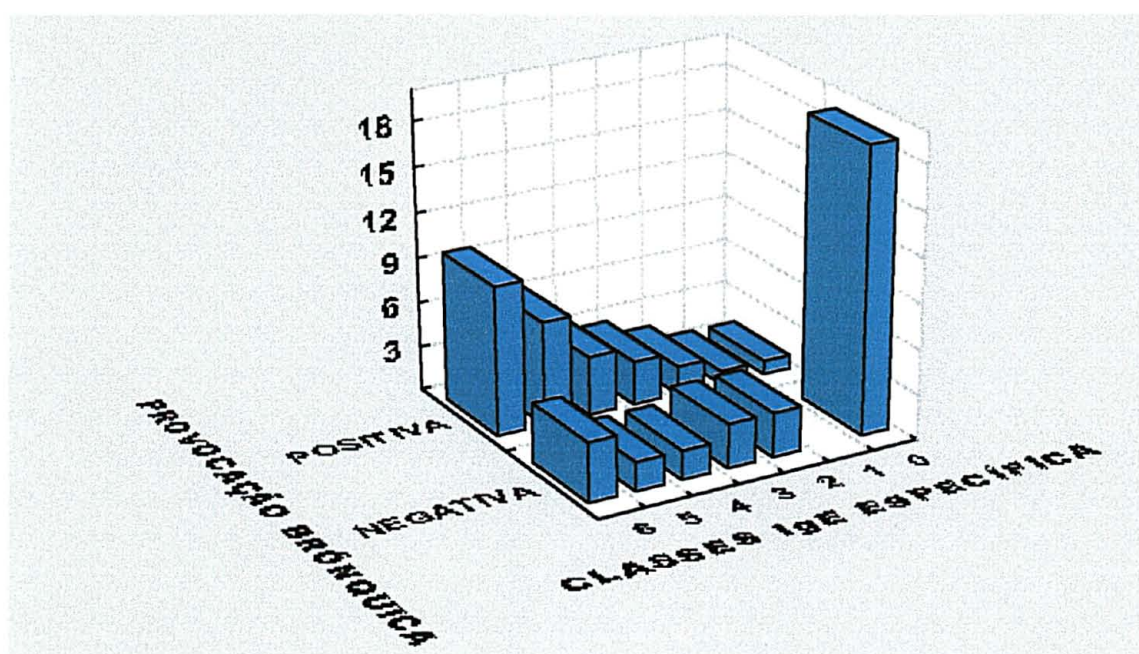


Figura 5 - Frequência de indivíduos com provocação positiva ou negativa em relação ao nível sérico de Ig E específica ao Dp (em classes):

A HRB está ligada diretamente ao grau de sensibilização do indivíduo, pois a simples presença do anticorpo específico ao Dp não determina a hiperresponsividade brônquica. (tabela 5)

Tabela 5 - Hiperresponsividade brônquica em indivíduos com elevação do nível sérico de IgE específica ao Dp.

	HIPERRESPONSIVIDADE BRÔNQUICA	
	SIM	NÃO
IgE elevada		
Asmáticos	25	7
Não-Asmáticos	2	7
Teste exato de Fisher - $p=0,0037$		

O uso de antiasmáticos reduz significativamente a hiperresponsividade de vias aéreas, bem como controla e modifica a gravidade da asma, reduzindo assim a sensibilidade a SH, podendo até negatizar a provocação brônquica. Dos nove pacientes que tiveram PB negativa, quatro já estavam assintomáticos e sem tratamento ($p = 0,024$), mas todos tiveram crise de asma há menos de 12 meses, evitando assim o critério de exclusão. No grupo de asmáticos com PB+, somente dois indivíduos dos 27 estavam assintomáticos e sem tratamento (tabela 6). Não houve diferença estatística entre o tempo de tratamento dos indivíduos com PB negativa e positiva.

Tabela 6 - Características do grupo de asmáticos com provocação positiva e negativa com relação à gravidade e tratamento:

ASMA	PB positiva (n=36)		PB negativa (n= 9)	
	<i>n</i>	(%)	<i>n</i>	(%)
TRATAMENTO				
Ativo	25	(69)	5	(55)
Já tratou	2	(6)	4	(45)
Nunca tratou	9	(25)	0	(0)
Duração (meses)	15,4		12	
MEDICAMENTOS				
Corticoide inalatório	26		8	
dose (µg/dia)	100-1000		100-1000	
isolado	17		2	
com B ₂ longa duração	7		6	
com antileucotrieno	2		0	
Antileucotrieno isolado	1		1	
Nunca usaram medicação	9		0	

Independente dos níveis de IgE específica ao Dp, 36(80%) de 45 asmáticos tiveram PB + e 2 de 26 não-asmáticos (7,7%) tiveram PB+ Tabela 1). O teste obteve desempenho com nível de sensibilidade de 80%, especificidade de 92%, valor preditivo positivo de 95 %, valor preditivo negativo de 73%, acurácia de 84%.

5 DISCUSSÃO

A maioria dos asmáticos (80%) e alguns indivíduos alérgicos não-asmáticos, apresentaram obstrução brônquica quando submetidos à inalação de solução salina hipertônica a 4,5%. Os indivíduos não-atópicos não apresentaram resposta significativa a SH. O valor de declínio do VEF₁ para determinar a hiperresponsividade difere entre vários pesquisadores (14,15,16). Neste estudo foi utilizado o valor de 15%, pois é um valor que aumenta a sensibilidade do método e reduz o risco de dispnéia e desconforto para o asmático.(17) A redução de 15% do VEF₁, diferencia os grupos com precisão, pois alguns indivíduos não-asmáticos e não-alérgicos quando inalam solução salina isotônica a 0,9%, podem apresentar queda de até 10% (18). Neste estudo com a inalação de solução salina hipertônica a 4,5%, o grupo controle alcançou a redução máxima de 10% no intervalo de confiança de 95%. No início do estudo, todos os participantes inalaram solução salina isotônica a 0,9% antes da medida do VEF₁ basal, para verificar-se a possibilidade de espasmo brônquico pela inalação de aerossóis, nos indivíduos mais susceptíveis, que podem ser reativos a qualquer agente inalado, mesmo solução isotônica. Verificou-se que a diferença do VEF₁ antes e após a inalação de SSI era inferior a 5%, optando-se assim por evitar o procedimento para não causar exaustão e perda da colaboração do paciente.

ANDERSON e cols (4) afirmam que não há casos falso-positivos na PB por SH em indivíduos saudáveis, diferente do procedimento com histamina e metacolina, onde até 30% dos indivíduos têm hiperresponsividade a estas substâncias, e não têm qualquer sintoma de asma. Não há correlação entre doses de metacolina e SH no mesmo indivíduo. Pode haver doses discordantes (alta de metacolina e baixa de salina e vice-versa), mas os resultados com histamina e metacolina são semelhantes num mesmo indivíduo (19). O excesso de íons é um fator adicional contribuinte para a resposta, haja visto que solução salina a 4% tem a mesma osmolaridade que dextrose a 6,1%, mas a primeira é muito mais potente que a segunda(6)

A inalação de solução salina hipertônica serve para medir a HRB, pois reproduz algumas condições às quais o epitélio respiratório é submetido, como acontece no exercício físico (20) e inalação de aerossol de água salgada decorrente de um banho de mar.(4) A solução salina a 4,5% é levemente superior à concentração da água do mar e este teste pode ter utilidade para mergulhadores.(21) O teste é de curta duração comparado a outras soluções de menor osmolaridade.

Este método de provocação está indicado para a pesquisa de hiperresponsividade brônquica em pacientes com asma moderada e grave (4), mas não para asma leve, pois é um método menos sensível do que histamina e metacolina. No entanto, neste estudo foi demonstrado que o teste também tem utilidade em asmáticos leves, pois cinco participantes com sintomas típicos de asma, mas sem diagnóstico, e dois não-asmáticos do grupo de alérgicos (sem história pessoal ou familiar de asma) mas com IgE específica detectável apresentaram PB positiva.

A comparação de desempenho do teste de provocação brônquica deste estudo com outros, deve ser feita com cuidado, pois há diferença nos critérios de inclusão e exclusão de casos, diferença na gravidade da asma, do tipo de nebulizadores e diferença nos débitos dos nebulímetros.(22) O nebulizador utilizado foi o ultrassônico (DeVilbiss) que produz aerossóis densos e débito 6 vezes maior, no mesmo período de tempo, em comparação ao nebulizador tradicional a jato . (anexo 9)(4).

Inicialmente os participantes foram divididos em 2 grupos, controle e asmáticos. Com os resultados das determinações de IgE específica ao ácaro Dp no grupo controle, constituiu-se um terceiro grupo composto de indivíduos não-

asmáticos, mas atópicos, com níveis elevados de IgE específica, possibilitando assim avaliar a relação da atopia com HRB.

A história familiar de asma e atopia, e uma história pessoal de alergia, são fatores de risco para o desenvolvimento de HRB.(12) Atopia é definida como uma síndrome clínica onde a asma é um dos componentes, por isso há uma inevitável associação de asma com atopia. Na atopia, mudanças imunológicas incluem resposta positiva ao teste cutâneo com alérgenos e altas concentrações de IgE circulante. (23) O aumento sérico de IgE específica para ácaros (Dp), intermedia um processo inflamatório alérgico nas vias aéreas, que manifesta-se por um aumento da responsividade aos agentes inaláveis.(13) A probabilidade de haver sintomas clínicos, aumenta de acordo com o nível sérico de anticorpo IgE específico, podendo chegar a 100% quando os níveis são iguais ou superiores a 17,5 kU/L (24) Embora possa ocorrer HRB em indivíduos normais assintomáticos, os indivíduos atópicos são os preferencialmente acometidos.(25) Pacientes assintomáticos com HRB a SH, com teste alérgico positivo têm maior chance de desenvolver asma do que pacientes com HRB não atópicos(25) podendo chegar a 50% de chance de desenvolver a doença nos 2 a 6 anos subseqüentes.(22) Embora a sensibilização aos alérgenos seja diferente para cada região, o antígeno mais freqüente nos testes cutâneos positivos ou nas dosagens de IgE específica no soro, é o ácaro (*Dermatophagoides pteronyssinus* ou *Dermatophagoides farinae*).(26) O *Dermatophagoides pteronyssinus* é o principal agente sensibilizante para doença alérgica das vias aéreas dos atópicos.(24) Neste estudo 93% dos asmáticos estavam sensibilizados ao Dp, o que mostra que a pesquisa de anticorpos IgE específicos para este alérgeno pode ser suficiente para identificar a maioria dos atópicos. (27) O

diagnóstico de atopia foi baseado na elevação do nível sérico da IgE específica para *Dermatophagoides pteronyssinus*. (28)

Os níveis de IgE específico eram mais elevados nos indivíduos com PB +. Houve correlação entre níveis séricos de IgE específica e o índice de responsividade, no entanto essa observação deve ser interpretada com cautela, pois quando são avaliados somente os indivíduos com IgE > 0,35 kU/L não há correlação desses níveis com o índice, nem com a PD15. A magnitude da sensibilização influencia a presença mas não a intensidade da HRB. A prevalência da HRB a metacolina aumenta progressivamente com a positividade a testes cutâneos positivos a alérgenos de gato e ácaros.(24) Como o método de dosagem de IgE não quantifica níveis superiores a 100 kU/L e nem inferiores a 0,35 kU/L, obteve-se baixa correlação do grau de sensibilização com HRB, pois vários casos (n= 10) tinham IgE > 100 kU/L e menor de 0,35 kU/L (n= 20).

A resposta da provocação brônquica por solução salina hipertônica é expressa em dose (PD), ligando-se por interpolação linear a porcentagem de queda de 15% do VEF₁ basal e a dose acumulada de SH naquele ponto. Esta forma tem correlação negativa ($r = -0,98$) com o índice de responsividade. Esse índice correlaciona-se a PD15 mas é superior como indicador de hiperresponsividade das vias aéreas, por considerar a maior redução do VEF₁ em relação ao volume total inalado após a conclusão do teste.(29) O índice de responsividade tem a vantagem sobre a PD pela possibilidade de ser usado, mesmo que a PD15 não seja alcançada e também pela praticidade. Dividindo-se a porcentagem de queda do VEF₁ pelo volume total inalado, diferente do PD15 onde necessita-se de um gráfico semilogarítmico. O Índice de

Responsividade elevado indica hiperresponsividade brônquica. (29) Este índice expressa melhor a resposta ao teste de provocação SH, distinguindo os indivíduos que reagem ao teste, daqueles que não o fazem. Os participantes que tiveram PB negativa tiveram um índice menor de 0,33 e naqueles com PB positiva o índice foi maior que 1,2. Entre 0,33 e 1,2 formou-se uma faixa de sobreposição que incluía tanto indivíduos com PB + e PB -, e pela análise de regressão logística, quando o índice se aproxima de 0,33, maior a chance de PB negativa e quando se afasta de 0,33, aproximando-se de 1,2, maior a chance de PB positiva.

O uso regular de corticóides nas duas semanas anteriores ao experimento poderia interferir nos resultados, mas os inalatórios não foram suspensos por limitação ética. (4) Nove indivíduos do grupo de asmáticos não responderam à provocação brônquica por solução salina hipertônica. Isto provavelmente seria resultado do tratamento, pois 45% deles estavam assintomáticos e sem qualquer medicação na ocasião do teste. Não foi analisada a relação da provocação brônquica com a gravidade, pois este referia-se ao diagnóstico antes do tratamento.

A desvantagem deste método é o tempo prolongado do teste,(30) principalmente nos pacientes não reatores. Alguns pacientes que concluíram o teste apresentaram tosse transitória, irritação da orofaringe, sialorréia e gosto desagradável de sal.

Conclusão:

A inalação de SH mostrou-se um método de provocação útil para avaliar hiperresponsividade brônquica em crianças e adolescentes, e poderia ser um marcador objetivo em estudos epidemiológicos de asma (2). É um teste que exige poucos equipamentos, baixo custo e requer pouca cooperação pelo paciente.

6 REFERÊNCIAS

1. Diretrizes para Testes de Função Pulmonar 2002. **J Pneumol** 2002;28: S1- S238.
2. Riedler J, Gamper A, Eder W, Oberfeld G. Prevalence of bronchial hyperresponsiveness to 4,5% saline and its relation to asthma and allergy symptoms in Austrian children. **Eur Respir J** 1998; 11: 355-60.
3. American Thoracic Society committee on proficiency standards for clinical pulmonary function laboratories. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing 1999. **Am J Respir Crit Care Med** 2000; 161: 309-29.
4. Anderson SD, Smith CM, Rodwell LT, du Toit JI, Riedler J, Robertson CF. The use of nonisotonic aerosols for evaluating bronchial responsiveness. In: Spector S. (ed) **Provocation testing in clinical practice**. New York: Copyright©, by Marcel Dekker, inc. 1995.p. 249-78.
5. Riedler J, Reade T, Robertson CF. Repeatability of response to hypertonic saline aerosol in children with mild to severe asthma. **Pediatr Pulmonol** 1994; 18: 330-36.
6. Smith CM, Anderson SD. Inhalation provocation tests using nonisotonic aerosols (review). **J Allergy Clin Immunol** 1989; 781-90.
7. Smith CM, Anderson SD. Hyperosmolarity as the stimulus to asthma induced by hyperventilation ? **J Allergy Clin Immunol** 1986;77: 729-35.
8. Polgar C, Promadhat V. Standard values. In: ____ Pulmonary function testing in children: techniques and standards. 1st ed. Philadelphia: **WB Saunders**, 1971;87-122.
9. Burke CM, Sreenan S, Pathmakanthan S, Patterson J, Schmekel B, Poulter LW. Relative effects of inhaled corticosteroids on immunopathology and physiology in asthma: a controlled study. **Thorax** 1996;51:993-99.
10. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma 2002. **J Pneumol** 2002; 28: S2-S28.

11. Kerkhof M, Dubois AEJ, Postma DS, Schouten JP, Monchy JGR. Role and interpretation of total serum Ig E measurements on the diagnosis of allergic airway disease in adults. **Allergy** 2003;58: 905-11.
12. Strauch E, Neupert T, Ihorst G, Van's Gravesande KS, Bohnet W, Hoeldke B, et al. Bronchial hyperresponsiveness to 4,5% hypertonic saline indicates a past history of asthma-like symptoms in children. **Pediatr Pulmonol** 2001; 31: 44-50.
13. Popov TA, Pizzichini MMM, Pizzichini E, Kolendowicz R, Punthakee Z, Dolovich J, Hargreave FE. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis. **Eur Respir J** 1995; 8: 559-65.
14. Araki H, Sly PD. Inhalation of hypertonic saline as a bronchial challenge in children with mild asthma and normal children. **J Allergy Clin Immunol**. 1989;84: 99-107.
15. Smith CM, Anderson SD. Inhalational challenge using hypertonic saline in asthmatic subjects: a comparison with responses to hyperpnoea, methacholine and water. **Eur Respir J** 1990;3: 144-51.
16. Riedler J, Reade T, Dalton M, Holst D, Robertson C. Hypertonic saline challenge in an epidemiologic survey of asthma in children. **Am J Respir Crit Care Med** 1994;150: 1632-39.
17. Sont JK, Booms P, Bel EH, Vandenbroucke JP, Sterk PJ. The Severity of breathlessness during challenges with inhaled methacholine and hypertonic saline in atopic asthmatic subjects. **Am J Respir Crit Care Med** 1995; 152: 38-44.
18. Makker HK, Holgate ST. The contribution of neurogenic reflexes to hypertonic saline-induced bronchoconstriction in asthma. **J Allergy Clin Immunol** 1993;92:82-8.
19. Boulet L.P, Legris C, Thibault L, Turcotte H. Comparative bronchial responses to hyperosmolar saline and methacoline in asthma. **Thorax** 1987; 42: 953-8.
20. Makker HK, Walls AF, Goulding D, Montefort S, Varley JJ, Carroll M, et al. Airway effects of local challenge with hypertonic saline in exercise- induced asthma. **Am J Respir Crit Care Med** 1994; 149: 1012-19.

21. Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PhH, Cockcroft DW, O'Byrne PM, Anderson SD, et al. Airway responsiveness: Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. **Eur Respir J Suppl** 1993;6: 53-83.
22. Mai XM, Nilsson L, Kjellman N-IM, Bjorksten B. Hypertonic saline challenge tests in the diagnosis of bronchial hyperresponsiveness and asthma in children. **Pediatr Allergy Immunol** 2002; 13:361-67.
23. Burney PGJ, Anderson HR, Burrows B, Chan-yeung M, Pride NB, Speizer FE. Atopy and risk factors of asthma in: **The role of inflammatory processes in airway hyperresponsiveness**. 1st edition, London. Holgate ST. Blackwell Scientific Publications. 1989;222-6.
24. Soderstrom L, Kober A, Ahisfedt S, Groot H, Lange C-E, Paganelli R, et al. A futher evaluation of the clinical use of specific IgE antibody testing in allergic diseases. **Allergy** 2003; 58: 921-28.
25. Laprise C, Boulet L-P. Asymptomatic airway hyperresponsiveness: a three-year follow-up. **Am J Respir Crit Care Med** 1997; 156:403-09.
26. Sears MR. Risk Factors: immunoglobulin E and atopy. In: Barnes PJ, Grunstein MM, Leff AR, Woolcok AJ, editors. **Asthma**. 1st ed. Philadelphia: Lippincort-Raven Publishers; 1997.p.71-9.
27. Rosario NA. Sensibilização atópica a aeroalérgenos em crianças asmáticas em Curitiba. **J Paranaense Pediatr** 2002;04:81-83.
28. Ahlstedt, S. Understanding the usefulness of IgE blood tests in allergy. **Clin Exp Allergy** 2002; 1:11-8.
29. Lis G, Pietrzyk JJ. Response-dose ratio as an index of bronchial responsiveness to hypertonic saline challenge in an epidemiological survey of asthma in polish children. **Pediatr Pulmonol** 1998; 25: 375-82.

30. Wojnarowski C, Van's Gravesande S, Riedler J, Eichler I, Gartner C, Frischer T. Comparison of bronchial challenge with ultrasonic nebulized distilled water and hypertonic saline in children with mild-to-moderate asthma. **Eur Respir J** 1996; 9: 1896-901.

ANEXO

PARTE II



Curitiba, 15 de julho de 2003.

Ilmo (a) Sr. (a)
Dr. Paulo Cesar Kussek
Nesta

Prezado(a) Senhor(a):

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "PROVOCAÇÃO BRÔNQUICA POR INALAÇÃO DE SOLUÇÃO SALINA HIPERTÔNICA", foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 25 de março de 2.003, o referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos.

Protocolo CEP-HC N° 618.037/2003-03

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que a cada ano seja apresentado a este CEP um relatório sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 15 de janeiro de 2004.

Atenciosamente,

Prof. Dr.-Renato Tambara Filho Coordenador do Comitê de
Ética em Pesquisa em Seres Humanos
do Hospital de Clinicas UFPR



HOSPITAL DE CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Broncoprovocação solução salina –

FICHA MÉDICA

Nº de identificação: _____

Nome: _____

Data: ____/____/____

HORA do início do exame : _____ (24 HS)

Sexo: _____

Data de Nascimento.: ____/____/____

Altura(cm): _____

Peso(kg): _____

VEF1 predito (ml): _____

Temperatura ambiente:

Diagnóstico:

Asma () Rinite () Alergia cutânea () Ig E elevado () Ig E normal ()

Outras: _____

Medicações de uso contínuo:

Última medicação/ horário/ data

_____/_____/_____
TODAS () /_____/_____

Tempo utilizado:

VEF1 (ml) basal: _____

% predito: _____

Queda do VEF1 em 10% _____

Queda do VEF1 em 15%: _____

Tempo de inalação salina	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Dose por período (ml)	Dose cumulativa (ml)	VEF1 (1)	VEF1 (2)	Queda VEF1 (%)
30 seg							
1.0 min							
2.0 min							
4.0 min							
8.0 min							

Tempo total de inalação : _____ min
_____ seg

PESO DO
NEBULIMETRO

Antes: _____ g.

Depois: _____ g.

Quantidade total: _____ g
(ml)

PD15: _____ ml

Se VEF1 <65% do predito:

Verificar VEF1 pós β -agonista (ml): _____ ; melhora em % : _____



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (GRUPO DE ASMÁTICOS)

Seu filho tem um tipo de doença denominado **asma** e está sendo convidado a participar de um estudo intitulado **“Provocação brônquica por inalação de solução salina hipertônica”**. Este exame é freqüentemente utilizado para detectar asma em adultos e crianças que tem sintomas atípicos bem como para controle de tratamento, e não envolve inalação de substâncias químicas ou drogas. Ao seu filho será solicitado a inalação de uma substância fina de solução salina, similar a água do mar. É através das pesquisas clínicas que ocorrem os avanços na medicina, e sua participação é de fundamental importância.

A inalação de solução salina tem sido utilizada freqüentemente em inúmeros laboratórios e estudos epidemiológicos no mundo inteiro, e tem demonstrado larga segurança e boa tolerância na sua utilização.

Caso seu filho participe da pesquisa, será solicitado a ele que inale uma solução salina similar a água do mar com posterior realização de espirometria, exame onde o paciente sopra em um equipamento eletrônico. O teste será supervisionado por um médico pesquisador com experiência no atendimento de crianças. O teste é considerado positivo quando há queda nos valores do sopro, mas esta queda geralmente não apresenta grandes sintomas e retornam a normalidade dentro de alguns minutos espontaneamente ou sob medicação.

Como em qualquer tratamento seu filho poderá experimentar alguns desconfortos relacionados ao gosto do sal e tosse reflexa, podendo ter leve desconforto para respirar, e também será estimulado a soprar fortemente.

Será necessário a suspensão de algumas doses de medicamentos que seu filho usa para o controle da asma e rinite até 48 horas anteriores ao exame, pois as mesmas interferem com os resultados.

Para tanto você deverá comparecer no Hospital de Clínicas, no dia e horário marcado para realizar o exame com duração máxima de uma hora, necessitando retornar para reexame, repetindo todo procedimento anterior caso haja necessidade.

Contudo os benefícios esperados são: diagnóstico precoce dos pacientes com sintomas inespecíficos e tratamento precoce destes pacientes, evitando assim atraso do diagnóstico e do tratamento, bem como das seqüelas graves futuras.

O médico, DR. PAULO KUSSEK Fone: (41) 9603-2973 / 360-1200 RAMAL 6216 poderá ser contatado e será responsável pelo seu tratamento e fará o acompanhamento através de contato telefônico, conforme consta no padrão Ético vigente no Brasil. Está garantida todas as informações que você queira, antes durante e depois do estudo.

A sua participação neste estudo é voluntária. Você tem a liberdade de recusar a participar do estudo, ou se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos médicos que executam a pesquisa e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.

Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames, medicamentos, etc.) não são da responsabilidade do paciente.

Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você terá a garantia de que qualquer problema decorrente do estudo será tratado no próprio H.C.

Quando os resultados forem publicados, não aparecerá nenhum nome, e sim um código.

Durante o estudo, você não deverá ingerir qualquer medicamento para doenças respiratórias sem autorização do pesquisador.

Eu, _____,

responsável pelo menor _____,

li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo e os tratamentos alternativos. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento, sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico. Eu entendi o que não posso fazer durante o tratamento e sei que qualquer problema relacionado ao tratamento será tratado sem custos para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Assinatura do paciente ou responsável

Data ____/____/____

Pesquisador Dr. Paulo Cesar Kussek

Data ____/____/____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (GRUPO DE NÃO ASMÁTICOS)

Seu filho está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica intitulada **“Provocação brônquica por inalação de solução salina hipertônica”**. Este exame é freqüentemente utilizado para detectar asma em adultos e crianças que tem sintomas atípicos bem como para controle de tratamento, e não envolve inalação de substâncias químicas ou drogas.

Seu filho não tem doença respiratória e ele realizará alguns exames com especialista para avaliar a normalidade do aparelho respiratório que são: exame de sangue para detectar alergia e espirometria que mede a função pulmonar. Caso seu filho participe da pesquisa, a ele será solicitado que inale uma solução salina similar a água do mar com posterior realização de espirometria, exame onde o paciente sopra em um aparelho. ***Em vários estudos já realizados, demonstrou-se que este procedimento não tem qualquer efeito no indivíduo normal.*** A inalação de solução salina tem sido utilizada frequentemente em inúmeros laboratórios e estudos epidemiológicos no mundo inteiro, e tem demonstrado segurança e boa tolerância na sua utilização. É através das pesquisas clínicas que ocorrem os avanços na medicina, e sua participação é de fundamental importância.

O teste será supervisionado por um médico pesquisador com experiência no atendimento de crianças.

Como em qualquer procedimento seu filho poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados com o gosto de sal e tosse reflexa podendo ter leve desconforto para respirar e será estimulado a soprar fortemente.

Para tanto você deverá comparecer no Hospital de Clínicas, no dia e horário marcado para realizar o exame com duração máxima de uma hora, necessitando retornar para reexame, repetindo todo procedimento anterior caso haja necessidade.

Seu filho não tem doença respiratória mas sua participação trará os seguintes benefícios aos pacientes com asma como: diagnóstico precoce dos pacientes com sintomas inespecíficos e tratamento precoce, evitando assim atraso do diagnóstico e do tratamento, bem como das sequelas graves futuras.

O médico, DR. PAULO KUSSEK Fone: (41) 9603-2973 / 360-1200 RAMAL 6216 poderá ser contatado e será responsável pelo seu tratamento, e fará o acompanhamento através de contato telefônico, conforme consta no padrão ético vigente no Brasil. Está garantida todas as informações que você queira, antes durante e depois do estudo.

A sua participação neste estudo é voluntária. Você tem a liberdade de recusar a participar do estudo, ou se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado.

As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos médicos que executam a pesquisa e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida. Quando os resultados forem publicados, não aparecerá nenhum nome, e sim um código.

Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames, medicamentos, etc.) não são da responsabilidade do paciente.

Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro. Normalmente não há qualquer problema para seu filho neste procedimento, nem mesmo para os pacientes asmáticos, mas caso haja assim mesmo qualquer imprevisto, você terá a garantia de tratamento no próprio H.C.

Durante o estudo, você não deverá ingerir qualquer medicamento para doenças respiratórias sem prévia autorização do pesquisador.

Eu, _____ ,
responsável pelo menor _____ ,
li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo e os tratamentos alternativos. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento, sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico. Eu entendi o que não posso fazer durante o tratamento e sei que qualquer problema relacionado ao tratamento será tratado sem custos para mim.

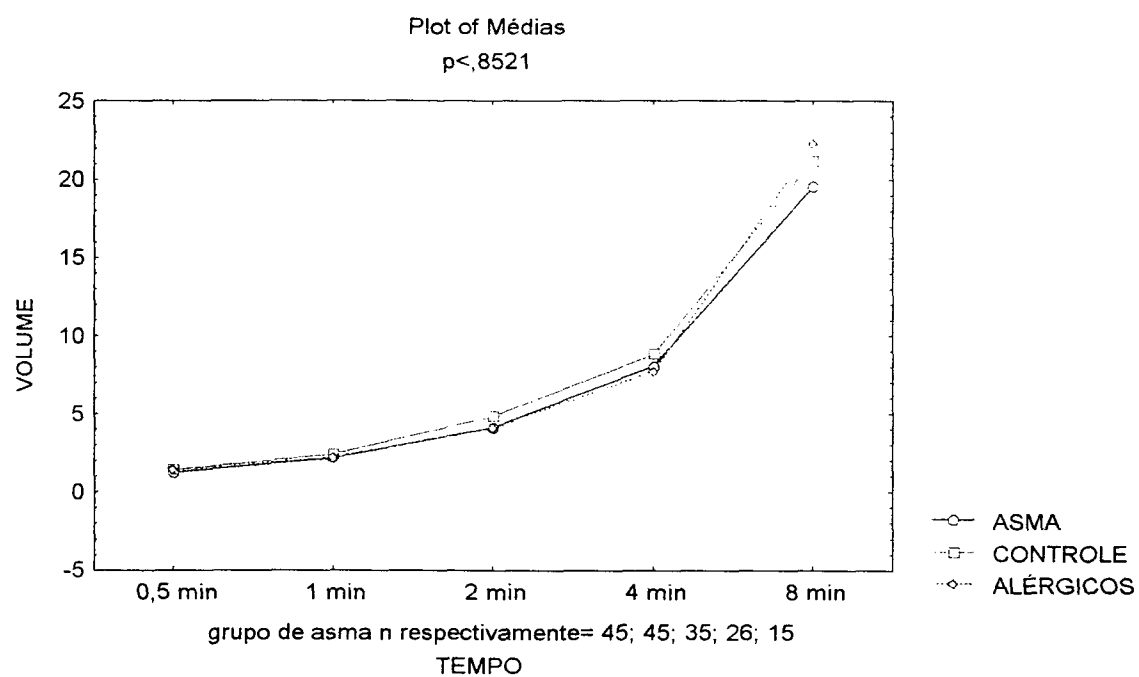
Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Assinatura do paciente ou responsável

Data ____/____/____

Pesquisador Dr. Paulo Cesar Kussek

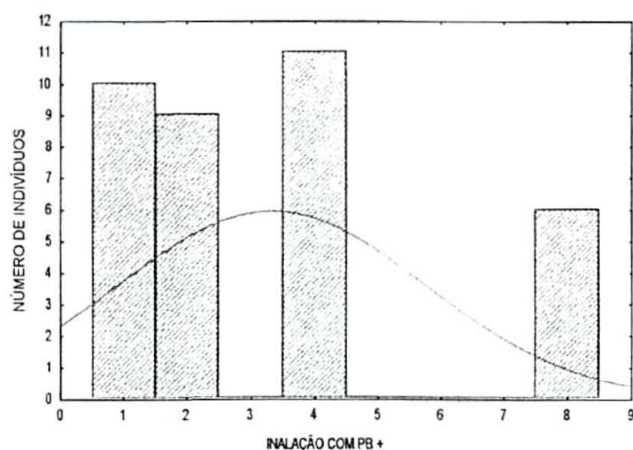
Data ____/____/____



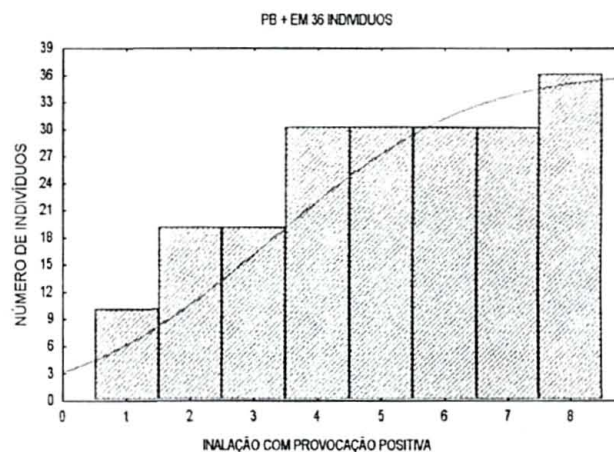
Anexo 1 - Comportamento do volume de solução inalada não acumulado pelos 3 grupos no diferentes tempos de inalação:

A frequência absoluta dos pacientes com BP positiva em cada inalação demonstra uma curva assimétrica com acento maior à esquerda demonstrando maior resposta a provocation já nas inalações iniciais.

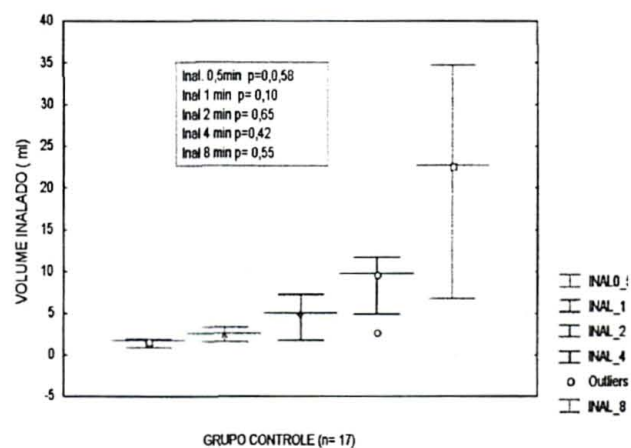
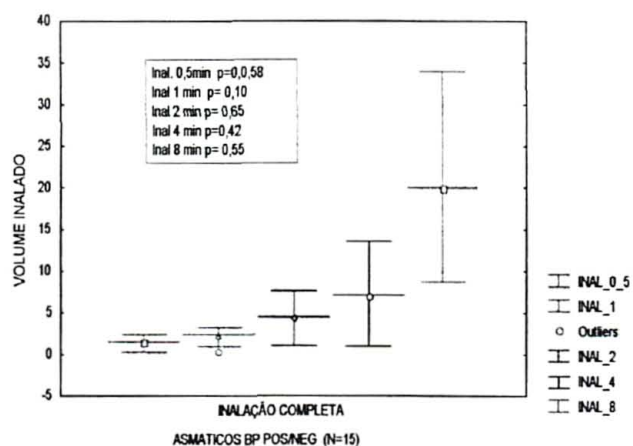
2a- Frequência:



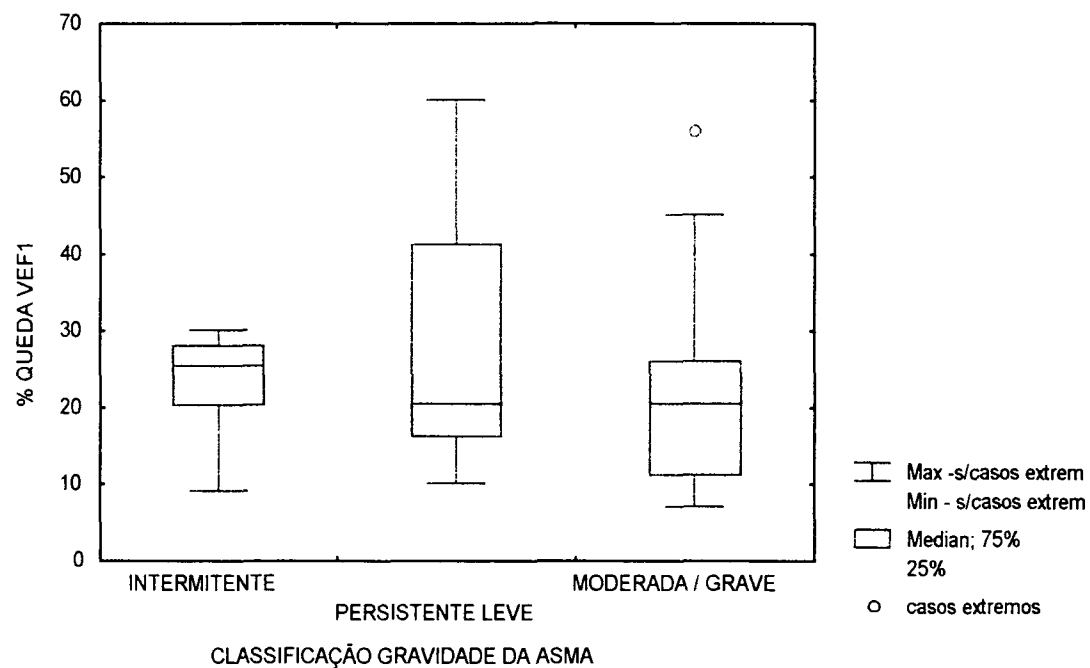
2 b- Frequência acumulada:



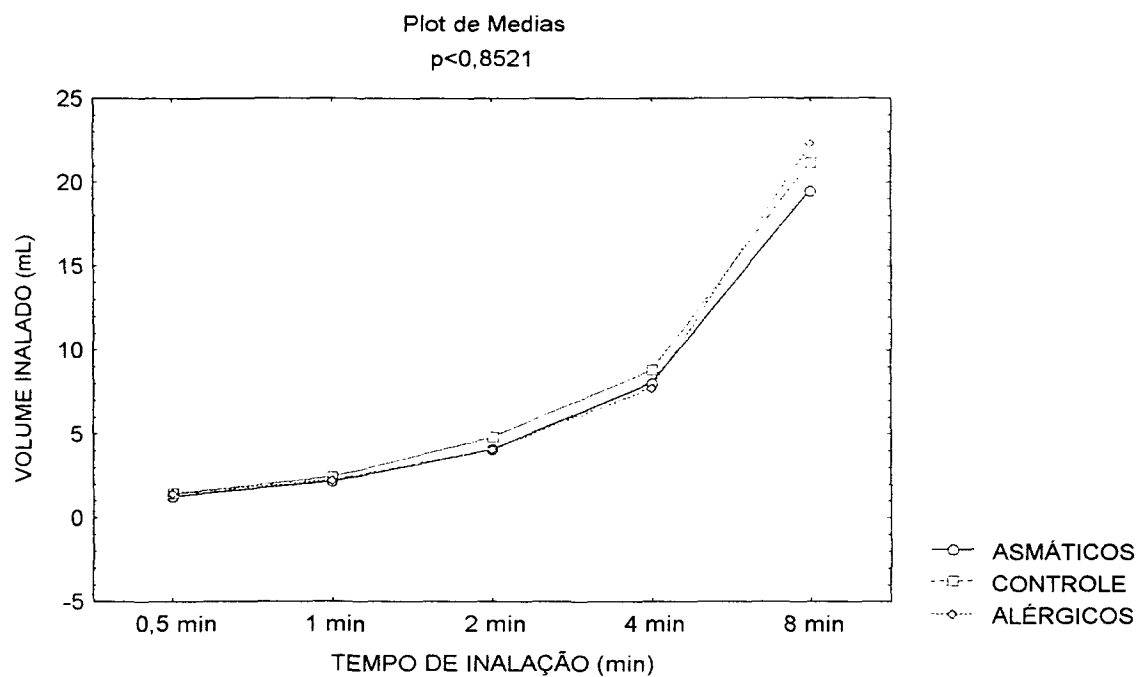
Anexo 2 - Frequência de casos com queda de $VEF1 \geq 15\%$ em relação ao basal nos diferentes tempos de inalação.



Anexo 3 - Volume inalado de SH em cada tempo de inalação.



Anexo 4 - Relação da porcentagem de queda de VEF1 basal com gravidade da asma:



Anexo 5 - Volume inalado de SH em cada tempo de inalação nos 2 grupos:

Anexo 6 - Estratificação dos níveis séricos de IgE específica ao DP nos indivíduos submetidos a provocação brônquica:

Nível sérico de IgE específico ao DP	PB + n = 28	PB- n = 33
0 □ — 0,35	1	19
0,35 □ — 0,70	1	0
0,70 □ — 3,5	2	3
3,5 □ — 17,5	3	3
17,5 □ — 50	4	2
50 □ — 100	7	2
100 □ —	10	4

$\chi^2=17,70$ / $p<0,0001$

Anexo 7 - Provocação brônquica e hiperresponsividade

Pela análise de regressão multivariada, somente o nível sérico de anticorpos específicos ao Dp apresentou correlação estatisticamente significativa ($r=0,23$) com a queda de VEF1 (Tabela 7).

Tabela 7 - Correlação entre porcentagem de queda do VEF1 e outras variáveis no grupo de asmáticos:

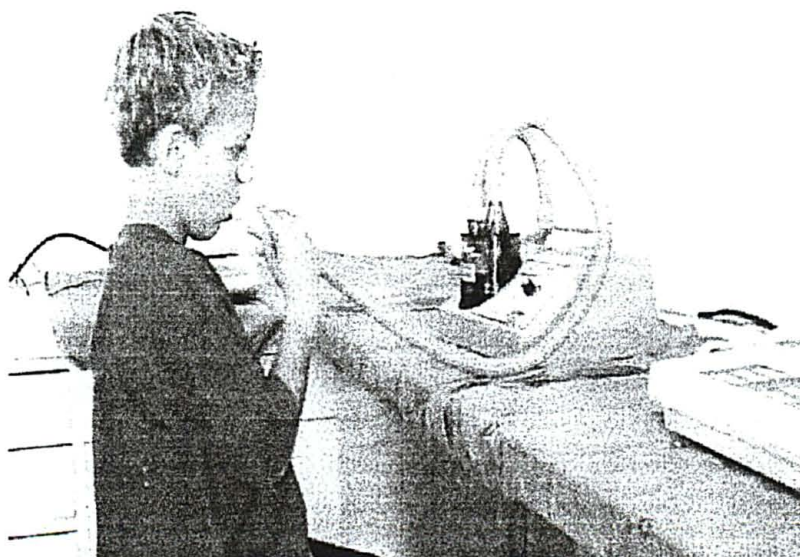
	Correlação com queda de 15% do VEF
Ig E específico DP (n=35)	0,23
Peso	-0,15
Altura	-0,11
Índice de massa corpórea	-0,18

Anexo 8 - Provocação salina hipertônica como teste de screening para a asma (38).

	Sibilantes freqüentes (current wheeze)	Asma infrequente (asthma ever)	Asma freqüente (current asthma)	Asma freqüente alérgica (current atopic asthma)	ESTUDO HOSPITAL DE CLINICAS 2003
Sensibilidade*	52	62	61	83	80%
Especificidade	83	83	81	60	92%
Valor preditivo positivo	57	51	42	79	95%
Valor preditivo negativo	81	89	90	67	73%
Eficiência (acurácia)	74	79	78	75	84%

* Acredita-se que a baixa sensibilidade em alguns pacientes seja devido ao tratamento prévio com corticosteroides inalatórios.

** **Provocação com solução salina hipertônica tem maior sensibilidade que outros agentes físicos como hiperventilação com ar frio (31%) e água destilada (36%). Possui igual sensibilidade ao exercício.**

Anexo 9- Figura demonstrando o nebulizador em uso durante a provocação.


Anexo 10 -Tamanho de partículas em função do nebulizador

	DÉBITO	TAMANHO DA PARTÍCULA	CONCENTRAÇÃO SALINA
DeVilbiss Ultraneb	2,5	4	3%
Fisoneb	0,9	5,9	3-5%
Mistogen	1,1	4	4-5%
Pari	0,4	3,1	3%

Olaguibel, J. M.et al. El estudio de la inflamación de la vía aérea en el asma bronquial mediante el análisis citológico y de químicos em la fase fluida de muestras de esputo inducido (in press).

* não dispomos de dados referentes a nebulizadores nacionais

Anexo 11 - Tabela dos dados obtidos de cada participante.

	IDENTIFICAÇÃO	IDADE (anos)	SEXO	ALTURA (metros)	PESO (Kg)	GRUPO	CLASSIFICAÇÃO	TEMPERATURA (°C)
1	1001	12	FEM	1,60	52,5	CONTROLE		17
2	1003	16	MASC	1,79	61,0	CONTROLE		14
3	1005	14	FEM	1,71	52,0	CONTROLE		15
4	1007	11	FEM	1,64	44,0	CONTROLE		18
5	1008	14	MASC	1,63	44,0	CONTROLE		19
6	1009	13	FEM	1,54	49,5	CONTROLE		19
7	1010	13	FEM	1,67	70,0	CONTROLE		19
8	1011	14	FEM	1,56	60,5	CONTROLE		18
9	1012	16	MASC	1,70	50,0	CONTROLE		19
10	1013	13	FEM	1,53	54,5	CONTROLE		19
11	1020	14	FEM	1,58	54,8	CONTROLE		19
12	1021	14	FEM	1,57	54,5	CONTROLE		19
13	1230	9	FEM	1,34	25,0	CONTROLE		23
14	1231	7	MASC	1,31	28,3	CONTROLE		23
15	1235	15	FEM	1,59	74,0	CONTROLE		22
16	1236	15	FEM	1,64	102,5	CONTROLE		23
17	1240	13	FEM	1,55	66,0	CONTROLE		21
18	1	10	MASC	1,49	47,0	ASMA	AS PER M	15
19	5	11	MASC	1,51	45,0	ASMA	AS PER L	23
20	6	10	FEM	1,32	24,0	ASMA	AS PER M	20
21	8	13	MASC	1,64	39,0	ASMA	AS PER M	20
22	9	7	FEM	1,27	24,5	ASMA	AS PER M	20
23	13	12	FEM	1,56	53,0	ASMA	AS PER L	21
24	15	12	FEM	1,56	44,0	ASMA	AS PER G	21
25	16	9	MASC	1,32	31,0	ASMA	AS PER M	21
26	17	9	MASC	1,36	31,5	ASMA	AS PER M	20
27	18	11	FEM	1,31	28,5	ASMA	AS PER G	20
28	19	12	FEM	1,67	71,0	ASMA	AS PER L	20
29	20	10	MASC	1,41	54,0	ASMA	AS PER L	20
30	21	15	FEM	1,55	45,5	ASMA	AS PER M	21
31	24	10	MASC	1,44	46,0	ASMA	AS PER L	20
32	25	10	FEM	1,45	35,0	ASMA	AS PER M	22
33	26	11	FEM	1,39	32,5	ASMA	AS PER L	22
34	30	8	MASC	1,37	30,0	ASMA	AS PER L	23
35	31	12	MASC	1,43	32,5	ASMA	AS PER G	22
36	32	14	MASC	1,30	22,5	ASMA	AS PER L	22

37	34	15	FEM	1,61	63,0	ASMA	AS PER L	22
38	35	9	MASC	1,41	30,0	ASMA	AS PER L	22
39	36	7	FEM	1,15	19,5	ASMA	AS PER L	22
40	37	10	MASC	1,38	33,5	ASMA	AS PER M	22
41	41	9	MASC	1,40	27,0	ASMA	AS PER L	19
42	42	13	MASC	1,65	68,5	ASMA	AS PER M	21
43	43	7	FEM	1,17	26,5	ASMA	ASM INT	21
44	51	7	FEM	1,33	33,0	ASMA	AS PER L	20
45	55	9	MASC	1,47	49,5	ASMA	AS PER M	20
46	56	13	MASC	1,61	62,0	ASMA	AS PER M	18
47	1002	13	FEM	1,54	45,7	ASMA	ASM INT	18
48	1004	14	FEM	1,75	53,0	ASMA	ASM INT	15
49	1017	14	FEM	1,54	44,0	ASMA	ASM INT	20
50	1018	14	MASC	1,60	44,5	ASMA	ASM INT	20
51	1104	12	FEM	1,54	60,0	ASMA	ASM INT	19
52	1105	10	MASC	1,49	54,5	ASMA	ASM INT	19
53	1241	14	FEM	1,60	98,5	ASMA	ASM INT	22
54	3	10	FEM	1,50	40,0	ASMA	AS PER M	16
55	11	8	MASC	1,37	29,0	ASMA	AS PER M	21
56	22	11	FEM	1,61	69,0	ASMA	AS PER L	21
57	38	10	MASC	1,45	57,0	ASMA	AS PER M	22
58	40	10	MASC	1,45	41,0	ASMA	AS PER L	19
59	44	11	FEM	1,48	33,0	ASMA	AS PER M	21
60	52	9	MASC	1,44	41,0	ASMA	ASM INT	21
61	54	8	MASC	1,24	29,0	ASMA	AS PER M	20
62	1102	12	MASC	1,58	67,5	ASMA	AS PER M	19
63	1006	13	MASC	1,64	45,5	ALERGICO		16
64	1014	13	MASC	1,69	68,0	ALERGICO		19
65	1015	13	MASC	1,67	54,0	ALERGICO		20
66	1016	13	MASC	1,61	41,5	ALERGICO		20
67	1019	14	MASC	1,67	72,0	ALERGICO		17
68	1201	16	MASC	1,65	66,5	ALERGICO		18
69	1203	13	MASC	1,60	70,5	ALERGICO		18
70	1232	15	MASC	1,71	73,5	ALERGICO		23
71	1234	11	FEM	1,65	66,0	ALERGICO		23

ASM INT= ASMA INTERMITENTE; AS PER L = ASMA PERSISTENTE LEVE; AS PER M = ASMA PERSISTENTE MODERADA;
AS PER G = ASMA PERSISTENTE GRAVE

	Ig E Dp (kU/L)	VEF ₁ BASAL (%)	TEMPO TOTAL INALAÇÃO (min)	INALAÇÃO COM QUEDA 15%	VOLUME TOTAL INALADO (mL)	QUEDA VEF ₁ (%)	ÍNDICE DE RESPONSI VIDADE	PB	MEDICA MENTOS EM USO
1	0	100	15,5		44,18	9	0,20	negativ	SEM
2	0	110	15,5		52,07	6	0,12	negativ	SEM
3	0	90	15,5		24,29	13	0,54	negativ	SEM
4	0	95	15,5		39,59	3	0,08	negativ	SEM
5	0	89	15,5		36,64	10	0,27	negativ	SEM
6	0	103	15,5		42,09	6	0,14	negativ	SEM
7	0	115	15,5		43,74	8	0,18	negativ	SEM
8	0	106	15,5		20,03	6	0,30	negativ	SEM
9	0	105	15,5		40,42	9	0,22	negativ	SEM
10	0	118	15,5		43,00	8	0,19	negativ	SEM
11	0	111	15,5		56,08	6	0,11	negativ	SEM
12	0	101	15,5		42,00	10	0,24	negativ	SEM
13	0	94	15,5		21,31	11	0,52	negativ	SEM
14	0	120	15,5		28,27	12	0,42	negativ	SEM
15	0	123	15,5		40,46	11	0,27	negativ	SEM
16	0	117	15,5		31,79	8	0,25	negativ	SEM
17	0	94	15,5		46,82	9	0,19	negativ	SEM
18	79,50	83	7,5	4,0	15,65	45	2,88	positiva	CONTINUO
19	57,30	123	1,5	1,0	2,77	16	5,78	positiva	CONTINUO
20	100	93	3,5	2,0	3,01	23	7,64	positiva	CONTINUO
21		101	3,5	2,0	6,45	40	6,20	positiva	CONTINUO
22		95	1,5	1,0	3,13	24	7,67	positiva	CONTINUO
23	100	106	3,5	2,0	5,25	20	3,81	positiva	CONTINUO
24	85,30	95	3,5	2,0	8,10	26	3,21	positiva	CONTINUO
25	100	143	7,5	4,0	18,28	33	1,81	positiva	CONTINUO
26	64,10	106	1,5	1,0	3,10	56	18,06	positiva	CONTINUO
27	54,80	93	1,5	1,0	1,95	22	11,28	positiva	CONTINUO
28	100	87	7,5	4,0	17,44	45	2,58	positiva	SEM
29	76,70	87	1,5	1,0	4,02	20	4,98	positiva	CONTINUO
30		97	7,5	4,0	18,57	39	2,10	positiva	CONTINUO
31	100	86	7,5	4,0	14,13	17	1,20	positiva	USOU
32	7,13	102	7,5	4,0	12,69	18	1,42	positiva	CONTINUO
33	100	76	1,5	1,0	2,74	60	21,90	positiva	CONTINUO
34	40,20	115	1,5	1,0	1,64	46	28,05	positiva	CONTINUO
35		116	15,5	8,0	34,57	20	0,58	positiva	CONTINUO
36	100	107	1,5	1,0	2,54	41	16,14	positiva	CONTINUO

37	100	86	1,5	1,0	3,74	15	4,01	positiva	CONTINUO
38		99	15,5	8,0	35,58	17	0,48	positiva	CONTINUO
39	13,30	132	3,5	2,0	9,15	24	2,62	positiva	CONTINUO
40	96,60	88	15,5	8,0	52,35	18	0,34	positiva	CONTINUO
41	35,30	92	3,5	2,0	6,57	18	2,74	positiva	USOU
42		102	3,5	2,0	8,55	23	2,69	positiva	CONTINUO
43	100	85	3,5	2,0	7,46	25	3,35	positiva	CONTINUO
44		89	3,5	2,0	6,11	32	5,24	positiva	SEM
45	45,80	103	7,5	4,0	8,39	15	1,79	positiva	CONTINUO
46		101	7,5	4,0	18,76	18	0,96	positiva	CONTINUO
47		100	7,5	4,0	14,16	20	1,41	positiva	SEM
48	0,57	91	15,5	8,0	34,08	29	0,85	positiva	SEM
49	0,79	120	15,5	8,0	33,43	24	0,72	positiva	SEM
50	0	103	15,5	8,0	43,36	15	0,35	positiva	SEM
51	27,10	84	7,5	4,0	16,67	30	1,80	positiva	SEM
52		106	1,5	1,0	5,02	28	5,58	positiva	SEM
53	0,95	102	7,5	4,0	19,38	27	1,39	positiva	SEM
54	100	75	15,5		35,68	7	0,20	negativ	CONTINUO
55	40,30	113	15,5		17,31	10	0,58	negativ	CONTINUO
56	12,50	88	15,5		20,81	14	0,67	negativ	CONTINUO
57	0	114	15,5		48,57	11	0,23	negativ	USOU
58	0	106	15,5		43,51	10	0,23	negativ	CONTINUO
59	15,40	84	15,5		23,37	10	0,43	negativ	USOU
60	100	77	15,5		34,85	9	0,26	negativ	USOU
61	47,30	129	15,5		22,45	8	0,36	negativ	USOU
62	100	119	15,5		45,38	7	0,15	negativ	CONTINUO
63	0,89	94	15,5		20,70	12	0,58	negativ	SEM
64	15,10	116	15,5		40,26	3	0,07	negativ	SEM
65	53,50	94	15,5		37,19	8	0,22	negativ	SEM
66	2,17	98	15,5		45,30	6	0,13	negativ	SEM
67	12,10	104	7,5	4,0	16,85	17	1,01	positiva	SEM
68	100,00	111	15,5	8,0	48,41	26	0,54	positiva	SEM
69	88,40	112	15,5		34,54	8	0,23	negativ	SEM
70	2,58	115	15,5		42,14	6	0,14	negativ	SEM
71	100	112	15,5		30,43	13	0,43	negativ	SEM

IgE = imunoglobulina E; VEF₁ = volume expiratório forçado no primeiro segundo; PB = provocação brônquica.

	QUAL?	QTOS MESES	PROCEDENCIA
1	Nada	0	Escola
2	Nada	0	Escola
3	Nada	0	Escola
4	Nada	0	Escola
5	Nada	0	Escola
6	Nada	0	Escola
7	Nada	0	Escola
8	Nada	0	Escola
9	Nada	0	Escola
10	Nada	0	Escola
11	Nada	0	Escola
12	Nada	0	Escola
13	Nada	0	Pp
14	Nada	0	Consultorio
15	Nada	0	Outros
16	Nada	0	Outros
17	nada	0	Outros
18	CI/B2/LE	101	Consultorio
19	CI BM	7	Hc
20	CI BM	8	Hc
21	CI+B2LON	12	Consultorio
22	CI BM	12	Consultorio
23	CI BD	9	Pp
24	CI/B2/LE	48	Consultorio
25	CI BD	10	Pp
26	CI BM	24	Hc
27	CI+B2LON	19	Hc
28	Nada	0	Hc
29	CI BM	12	Hc
30	CI BM	2	Pp
31	CI BM	48	Hc
32	CI BM	24	Hc
33	CI BM	36	Hc
34	CI+B2LON	24	Consultorio
35	CI+B2LON	4	Consultorio
36	CI BM	12	Consultorio
37	CI BD	36	Hc
38	CI FT	4	Pp

39	CI BM	24	Hc
40	CI+B2LON	24	Pp
41	CI+B2LON	18	Consultorio
42	CI BM	6	Hc
43	a.leucot	1	Consultorio
44	Nada	0	Pp
45	CI BM	24	Hc
46	CI+B2LON	6	Consultorio
47	Nada	0	Escola
48	Nada	0	Escola
49	Nada	0	Escola
50	Nada	0	Escola
51	Nada	0	Outros
52	Nada	0	Outros
53	Nada	0	Outros
54	CI+B2LON	7	Consultorio
55	CI+B2LON	9	Consultorio
56	CI BM	2	Pp
57	CI+B2LON	24	Pp
58	CI+B2LON	18	Hc
59	CI+B2LON	18	Pp
60	CI+B2LON	3	Consultorio
61	a.leucot	12	Consultorio
62	CI BM	15	Outros
63	Nada	0	Escola
64	Nada	0	Escola
65	Nada	0	Escola
66	Nada	0	Escola
67	Nada	0	Escola
68	Nada	0	Escola
69	Nada	0	Escola
70	Nada	0	Escola
71	Nada	0	Escola

CI= CORTICÓIDE INALATÓRIO; BM = BECLOMETASONA
 B2 LONG= BRONCODILATADOR DE LONGA DURAÇÃO
 a.leucot = ANTILEUCOTRIENO; FT= FLUTICASONA; BD= BUDESONIDA
 Pp= Hospital Pequeno Príncipe; Hc= Hospital de Clínicas.